Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen
Lehrstuhl II: Professor Dr. R. Jacob

Untersuchungen zum Wirkungsantagonismus von exogenem Noradrenalin und exogenem Acetylcholin, dargestellt am isolierten Papillarmuskel der Katze

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hans-Friedrich Kienzle
aus Gschwend

1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546528_0101

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen
Lehrstuhl II: Professor Dr. R. Jacob

Untersuchungen zum Wirkungsantagonismus von exogenem Noradrenalin und exogenem Acetylcholin, dargestellt am isolierten Papillarmuskel der Katze

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hans-Friedrich Kienzle
aus Gschwend

1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. W. Schlote

1. Berichterstatter: Professor Dr. R. Jacob

2. Berichterstatter: Professor Dr. M. Siess

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG . Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I	Einleitung	5
II	Methoden	8
	1. Material und Präparation	8
	2. Beschreibung der Perfusionskammer	10
	3. Reizgerät und Reizbedingungen	11
	4. Registriersystem	11
	5. Ableitung von Aktionspotentialen	12
	6. Lösungen	12
	7. Herstellung einer sauerstoffarmen Lösung	14
	8. Modifikationen des Versuchsablaufs bei der Untersuchung des N.A. - ACh-Antagonismus	16
	9. Beweis der ausreichenden N.A.-Entspeicherung durch Reserpin	20
	1o. Mathematische Bearbeitung der Ergebnisse a) statistische Analyse b) Beschreibung zweier unterschiedlicher Methoden der Darstellung und rechnerischen Bearbeitung der Versuchsergebnisse	21
III	Ergebnisse	23
	A. Untersuchungen zur Spezifität der katecholamin-antagonistischen, negativ inotropen Wirkungskomponente von exogenem ACh	23
	1. ACh-Wirkung bei Ca^{++}-bedingter Kontraktilitäts-steigerung	23
	2. ACh-Wirkung bei Ca^{++}-bedingter Kontraktilitäts-steigerung nach primärer Barbituratinsuffizienz	26

Seite

3. ACh-Wirkung bei Strophanthin-bedingter Kontraktilitätssteigerung nach primärer Barbituratinsuffizienz 29
4. ACh-Wirkung unter den Bedingungen postextrasystolischer Potenzierung 32

B. Untersuchungen zum Wirkungsantagonismus von exogenem N.A. und exogenem ACh 36

1. Ergebnisse nach Methode I (ACh nach primärer Kontraktilitätssteigerung durch N.A.) 36

a) Versuche unter Normalbedingungen
b) Versuche unter hypoxischen Bedingungen

2. Ergebnisse nach Methode II (Hemmung einer N.A.-bedingten Kontraktilitätssteigerung durch primäre ACh-Applikation) 43

a) Versuche unter Normalbedingungen
b) Versuche nach primärer Hexobarbitalinsuffizienz

3. Vergleich der Ergebnisse nach Methode I und II 48

C. Blockade der ACh-Wirkung durch Atropin 51

D. Änderungen des muskulären Aktionspotentials unter dem Einfluss von ACh 53

IV Diskussion 55

1. Zur Frage der Spezifität 55
2. Zur Rezeptorentheorie 56

a) kompetitiver Antagonismus
b) nicht kompetitiver Antagonismus
c) unkompetitiver Antagonismus
d) chemischer Antagonismus

Seite

3. Abhängigkeit der ACh-Effekte vom kontraktilen Zustand des Präparates unter Kontrollbedingungen 62

4. Untersuchung der antiadrenergen Effekte von ACh mit verschiedenen Versuchsanordnungen 63

5. Einfluss von ACh auf das Aktionspotential 64

V Zusammenfassung 68

VI Literaturverzeichnis 70

Abkürzungen

AMP	Adenosinmonophosphat
ACh	Acetylcholin
EDTA	Äthylen-Diamin-Tetraessigsäure
n	Anzahl der Versuche
N.A.	Noradrenalin

I EINLEITUNG

Seit Loewi 1921 die homorale Übertragung der Vaguswirkung demonstrierte und als Überträgerstoff das ACh entdeckte (36, 37), ist oft versucht worden, die Wirkung von ACh auf die verschiedenen Herzabschnitte in ihren einzelnen Komponenten zu klären. Am Froschherzen zeigte Láncos 193o (26), daß die negativ inotrope Wirkung von ACh am Vorhof stärker ist als an der Kammerbasis und an dieser stärker als an der Kammerspitze. Dagegen fanden Lissák und Martin 194o (32) keine unterschiedliche Empfindlichkeit innerhalb der Froschkammer und keine nennenswerte Differenz zwischen Kammer und Vorhof.

Später wurde in vielen Arbeiten die Ansicht vertreten, das Ventrikelmyokard des Warmblüters sei gegen den Einfluß von ACh refraktär (48, 1, 49, 17, 31). Dies entspricht auch der gängigen Lehrmeinung (23, 45). Aus den Veröffentlichungen der letzten Jahre geht jedoch hervor, daß diese Auffassung nicht uneingeschränkt Geltung hat. Die Ergebnisse dieser Arbeiten aus neuerer Zeit sind teilweise recht widerspruchsvoll.

Manche Autoren sahen unter Vagusreizung einen negativ inotropen Effekt an der Ventrikelmuskulatur (1o, 13). Andere beobachteten eine positive Inotropie an den Kammern, sowohl an isolierten Präparaten (27, 41), als auch am intakten Herzen (16, 27, 45). Von weiteren Untersuchern wurden am gleichen Präparat sowohl positiv inotrope Effekte als auch Kontraktilitätsminderungen gesehen, und zwar nach Verabreichung von ACh (18) wie auch nach Vagusreizung (29). Die positive Inotropie läßt sich zum Teil auf eine Freisetzung von N.A. zurückführen, jedoch sind auch positiv inotrope Eigeneffekte von ACh beobachtet worden (12, 56). Muscholl und Löffelholz (34) erklärten die negativ inotrope Wirkung von ACh durch eine Hemmung der Freisetzung von endogenen Katecholaminen aus intramuralen sympathischen Nervenendigungen. Ziel der vorgelegten Arbeit war es zu klären,

ob darüber hinaus eine Wirkungskomponente von ACh am Myokard selbst angreift.

Methoden und Fragestellungen der bisherigen Untersuchungen erlauben die Beantwortung dieser Frage nicht. Ein Teil der Autoren führte die Experimente an Ganztieren durch, manche arbeiteten mit Herzlungenpräparaten, wieder andere verwendeten Papillarmuskeln. Schon auf Grund dieser unterschiedlichen Versuchsansätze war es wohl unvermeidlich, daß die einzelnen Untersucher zu ganz verschiedenen Ergebnissen und Schlußfolgerungen kamen, was neuerdings auch Levy (28) hervorhob.

Um übersichtliche Untersuchungsbedingungen zu gewährleisten und eine Überlagerung durch nervale Wirkungskomponenten ausschließen zu können, schien es erforderlich,die einzelnen Effekte durch e x o g e n e Zufuhr der in Frage kommenden Substanzen isoliert an einem Streifenpräparat zu untersuchen. Damit kann die myokardiale Wirkungskomponente von ACh klar herausgestellt werden; eine Überlagerung durch Effekte mit nervalem Angriff wird ausgeschlossen.

Nach vorausgehenden orientierenden Versuchen zu diesem Fragenkomplex von Jacob et al. (22) sollte auf Grund der vorliegenden Untersuchungen festgestellt werden, inwieweit eine frequenzunabhängige Steigerung der Kontraktionsamplitude nach exogener Zufuhr von N.A. durch exogenes ACh wieder rückgängig gemacht werden kann.

Positiv inotrope Eigeneffekte von ACh, die wir wohl beobachtet haben, wurden in dieser Arbeit nicht weiterverfolgt und untersucht. Gegenstand dieser Untersuchung war lediglich die negative Inotropie von ACh bei durch exogene Katecholamine gesteigerter Kontraktilität an der Kammermuskulatur bzw. an einem Papillarmuskel des rechten Ventrikels. Im Anschluß an die Untersuchung der Kontraktilitätsänderungen bei ACh-Applikation wurde geprüft, ob ACh nach primärer Kontraktilitätssteigerung durch N.A. einen Einfluß auch auf das Aktionspotential hat.

Schmidt (49) untersuchte die Effekte von ACh an verschiedenen Teilen des Herzens und fand dabei am Kammermyokard - in Übereinstimmung mit Hoffmann und Suckling (17) - einen konstanten Verlauf des Aktionspotentials bis zu hohen Konzentrationen ($1o^{-4}$ g/ml), während in Purkinjefasern und an der Vorhofmuskulatur eine nicht ständig nachzuweisende Reduktion der Aktionspotentialdauer gesehen wurde (49).

In neueren Untersuchungen von Lu et al. (38) wurde über eine geringe Verkürzung der Aktionspotentialdauer unter dem Einfluß von ACh ($1o^{-7}$ g/ml) berichtet; diese war aber nicht begleitet von einer Abnahme der entwickelten Spannung. Im Gegensatz dazu konnten Jacob et al. (22) während der Freisetzung von Katecholaminen durch Feldstimulation eine ausgeprägtere Verkürzung des Aktionspotentials feststellen, wenn ACh die Kontraktilität wesentlich verminderte.

Diese Effekte von ACh auf das Aktionspotential, die in diesen vorläufigen Untersuchungen während Feldstimulation gesehen wurden, könnten entsprechend den Ergebnissen von Löffelholz und Muscholl (34, 35) wenigstens teilweise als Folge einer Hemmung von endogener Katecholaminwirkung interpretiert werden. Deshalb wurde in den vorliegenden Versuchen den Auswirkungen von ACh auf das Aktionspotential bei gleichzeitig vorhandener Kontraktilitätsminderung durch Zugabe des Gemisches N.A./ACh besondere Bedeutung zugemessen.

II METHODEN

1. Material und Präparation

Für die Versuche wurden 83 Katzen beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht zwischen 1,5 und 3,5 kg verwendet. 24 - 48 Stunden vor Versuchsbeginn wurde den Tieren Reserpin, 4,o - 5,o mg/kg Körpergewicht, intraperitoneal injiziert.

Der Versuch wurde eingeleitet mit der Narkose; 3o mg Pentobarbital-Na/kg i.p. waren nach einer Wartezeit von 15 Minuten für eine vollständige Narkose ausreichend. In Rückenlage wurde die Katze thorakotomiert. Nach Eröffnung des Perikards wurden die großen Gefäße durchtrennt, das Herz entfernt und in eine auf 3o° C angewärmte Tyrodelösung gebracht, in der es sich völlig ausbluten konnte. In einer frischen, angewärmten und mit Carbogen durchperlten Tyrodelösung erfolgte anschließend die Präparation eines Papillarmuskels im rechten Ventrikel. Nachdem eine Branche der Schere in die a. pulmonalis eingeführt war, wurde der rechte Ventrikel durch Schnittführung längs dem vorderen Ast der rechten Koronararterie in Richtung auf die Herzspitze zu eröffnet. So hatte man die Gewähr, daß kein Papillarmuskel verletzt wurde. Der für den Versuch am besten geeignete, d.h. längste und dünnste Muskel wurde am Ansatz seiner Sehnenfäden angehakt und nach leichter Dehnung an seinem Ursprung durchtrennt. Kein Papillarmuskel betrug in seinem Durchmesser mehr als 1 mm. Unabdingbar war eine rasche, sichere und schonende Präparation, um das Präparat so wenig wie möglich zu schädigen.

Der auf der einen Seite mit einer zu einem Haken geformten Minutiennadel angehakte Muskel wurde mittels einer zweiten Nadel im Wachsboden der Perfusionskammer festge-

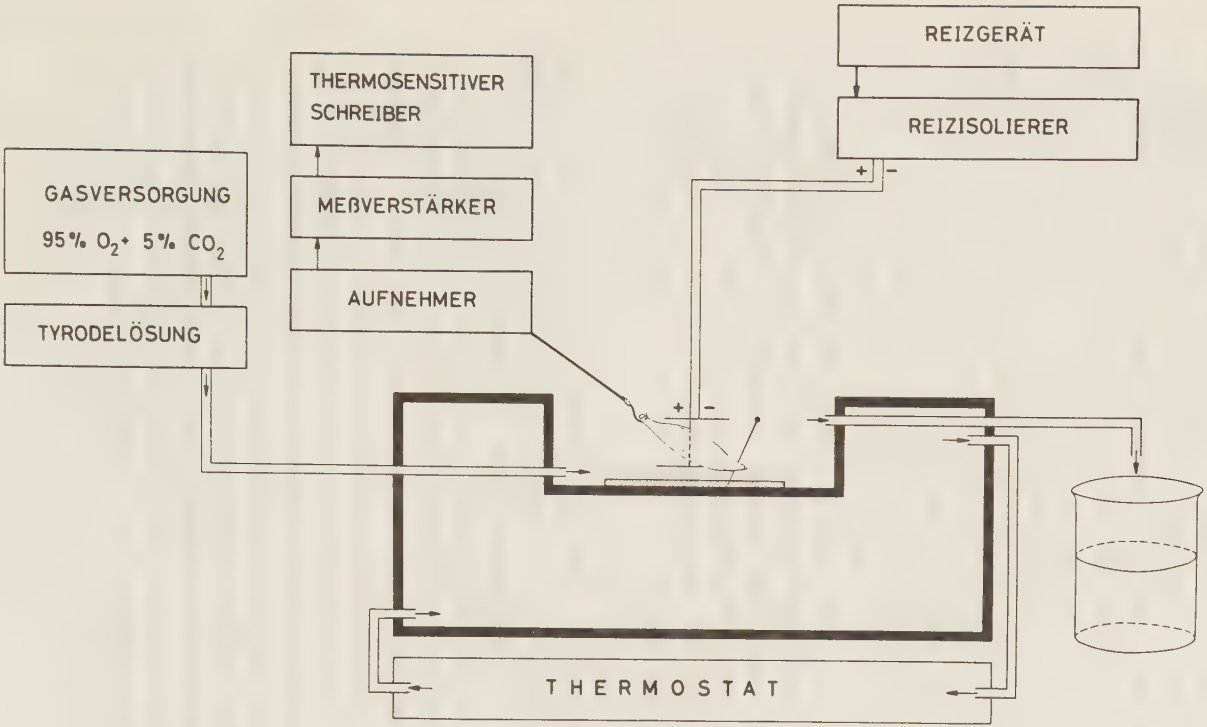


Abb. 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus. Rechts im Bild die mit Carbogen versorgte und über einen Schlauch in die Wachskammer einfließende Tyrodelösung. In der Mitte über der Kammer Aufnehmer, Verstärker und thermosensitiver Schreiber. Auf der linken Bildseite ist das Reizgerät angeordnet; der Reizisolierer ist ihm vorgeschaltet.

steckt, das freie Ende mit dem Haken über einen 5 cm langen Nylonfaden an einem mechanoelektrischen Wandler (Widerstandselement der Fa. Shinkoh) befestigt; über diesen Wandler wurden die nahezu isometrischen Kontraktionen auf die Registriereinheit übertragen (Abb. 1). Der Muskel wurde so zwischen zwei Platinlamellen plaziert, daß er in seiner Gesamtheit synchron gereizt werden konnte. Er wurde umspült von einer mit Carbogen durchperlten Nährlösung, deren Austauschrate 12 ml/min betrug. Die Tyrodelösung wurde in ihrem Vorratsbehälter ständig mit Carbogen, einem Gasgemisch von 95 % O_2 und 5 % CO_2, durchperlt.

Nach diesen Vorbereitungen wurde der Muskel mindestens eine Stunde lang mit Schwellenspannung und einer konstanten Frequenz von o,1 Hz gereizt. Es hatte sich bei der Erprobung des Versuchsaufbaus gezeigt, daß diese Zeit der Restitution für den Ablauf und Erfolg der Versuche von großer Bedeutung ist.

2. Beschreibung der Perfusionskammer

Wie aus Abb. 1 zu ersehen, handelt es sich um eine quaderförmige Plexiglaskammer, die mit Wasser angefüllt ist; dieses Wasser wird ständig über einen Thermostaten ausgetauscht. Der Zuleitungsschlauch für die Tyrodelösung führt über eine Strecke von 5o cm durch dieses angeheizte Wasser, so daß Nährlösung und Medikamente den Muskel mit einer konstanten Temperatur von 32^{o} C erreichen. Die eigentliche, für den Muskelstreifen bestimmte Perfusionskammer hat einen Rauminhalt von 1 cm^3 und ist in die Oberseite des Plexiglasquaders eingelassen. Sie besteht aus Stearin-Kerzenwachs, in das die Platinelektroden eingeschmolzen und Zu- und Abfluß für die Nährlösung einmodelliert wurden.

3. Reizgerät und Reizbedingungen

Der Muskel wurde stimuliert durch Rechteckreize von 2 msec Dauer, die 1 Volt über der durchschnittlichen Schwellenspannung von 1,8 V lagen. Da im Laufe der Versuche eine geringe Zunahme der Reizschwelle zu verzeichnen war, wurde die Spannung von vornherein hoch genug gewählt, damit sich eine spätere Nachjustierung erübrigte. Die Stromdichte lag bei o,2 mA/mm^2. Während der Zeit der anfänglichen Restitution wurde eine Frequenz von o,1 Hz eingehalten; die Arbeitsfrequenz betrug o,8 - 1 Hz. Bei dickeren Muskeln wurde die niedrigere Frequenz gewählt, da ein mechanischer Alternans bei einigen Präparaten anzeigte, daß bei dem vorhandenen Angebot von O_2 und Nährstoffen die Diffusionsgeschwindigkeit nicht ausreichte, um bei einer Frequenz von 1 Hz eine Konstanz der Kraftentwicklung zu erreichen.

Zwischen Reizgerät (Fa. Tönnies, Freiburg) und den Platinelektroden war ein Reizisolierer (Fa. Tönnies, Freiburg) zwischengeschaltet (Abb. 1). Der Reizisolierer garantiert erdfreie, symmetrische Reize im Feld zwischen den beiden Elektroden. Die Platinelektroden ragten über eine Länge von 13 mm frei in die Perfusionskammer, waren 1,5 mm breit und hatten einen gegenseitigen Abstand von maximal 3 mm.

4. Registriersystem

Die Registrierung der weitgehend isometrischen Kontraktionen erfolgte über einen mechanoelektrischen Wandler (Widerstandselement der Fa. Shinkoh), der die Widerstandsänderungen auf ein Verstärkergerät (Fa. Hellige) übertrug (Abb. 1). Da die Registrierung nicht unter streng isometrischen Bedingungen erfolgte, werden keine Absolutwerte angegeben. Bei einem Vergleich mit einem streng

isometrischen Registriersystem ergab sich,daß die Kräfte in einem Bereich zwischen 1 und 5 p/mm^2 lagen. Die verstärkten Impulse wurden mittels eines thermosensitiven Direktschreibers (Fa. Hellige) auf ein mit Wachs beschichtetes Papier aufgezeichnet.

Die Eichung wurde am Versuchsende vorgenommen, indem bekannte Gewichte (o,5 und 1,o g) unter Beibehaltung der Verstärkungen dem Widerstandselement angelegt wurden.

5. Ableitung von Aktionspotentialen

Die muskulären Aktionspotentiale wurden über intrazelluläre Glaskapillaren registriert. Die Glaskapillaren, die einen Spitzendurchmesser von o,5 - 1 µ hatten, waren mit 3-molarer KCl gefüllt und hatten einen Widerstand von 2o - 3o MegOhm. Die durch Ag/AgCl-Elektroden abgeleiteten Potentialdifferenzen wurden nach Kompensation durch einen hochohmigen, kapazitätskompensierten Verstärker (Fa. Tönnies, Freiburg) registriert. Vor Beginn einer Versuchsreihe wurde angestrebt, die Elektrode durch Kontrolle am Leuchtschirm eines Kathodenstrahloszillosgraphen sicher intrazellulär zu plazieren, so daß sie während des ganzen Versuchsablaufs in derselben Zelle liegenblieb. Nur so sind unterschiedliche Potentialhöhen sicher zu erkennen.

6. Lösungen

Zur Perfusion wurde eine Tyrodelösung verwendet, die folgende Zusammensetzung hatte (Angaben in mMol/l):

NaCl	13o,o
KCl	4,o
$CaCl_2$	2,2
$NaHCO_3$	13,o
NaH_2PO_4	o,8
Glucose	1o,6
Saccharose	13,2

Die pH-Werte wurden mit der pH-Elektrode gemessen. Nach Zusatz von 95 % O_2 und 5 % CO_2 wies die Lösung ein pH von 7,45 auf.

Folgende pharmakologischen Substanzen wurden verwendet: Noradrenalin-Hydrochlorid (Hoechst 1:1ooo), Reserpinphosphat (Ciba), Atropinsulfat 1 % (Merck), Acetylcholinhydrochlorid (Dispersa-Baeschlin), Hexobarbital-Na (Bayer), Pentobarbital-Natrium (Abott-Chemie), Glucagon kristallin (Lilly).

Die Konzentrationsangaben von N.A. und ACh erfolgen in g/ml. Die Molekulargewichte von N.A. und ACh sind gleicher Größenordnung und differieren nur unbedeutend (MG von ACh 181,67, MG von N.A. 2oo,68). Daher ist es auch bei der Verwendung der Konzentrationseinheit von g/ml möglich, die stöchiometrischen Bedingungen approximativ zu berücksichtigen.

Schwierigkeiten bereitete die Unbeständigkeit von N.A. gegenüber oxidierenden Einflüssen. Es zeigte sich, daß N.A. in der O_2-durchperlten Lösung bei 32^o C spätestens binnen 2o Minuten oxidiert war, so daß keine positiv inotrope Wirkung mehr zustande kam. Die Oxidationsprodukte wirkten im Gegenteil negativ inotrop. Daher wurde der Versuch unternommen, N.A. durch Spuren von EDTA (1o mg/ml Tyrodelösung $\hat{=}$ o,o26 mMol/l) zu stabilisieren (13). Nach Applikation von EDTA jedoch war die Wirkung von ACh am Ventrikelmyokard nicht mehr nachweisbar, während ACh am Vorhof auch in Gegenwart von EDTA voll wirksam war.

Um diese Schwierigkeiten zu umgehen, wurden die N.A.-Lösungen jeweils unmittelbar vor ihrer Zugabe angesetzt. Keine N.A.-Lösung war damit bei ihrer Verwendung älter als 1o Minuten. Dieses Vorgehen komplizierte zwar den Versuchsablauf nicht unerheblich, doch hat sich diese Arbeitsweise sehr gut bewährt.

7. Herstellung einer sauerstoffarmen Lösung

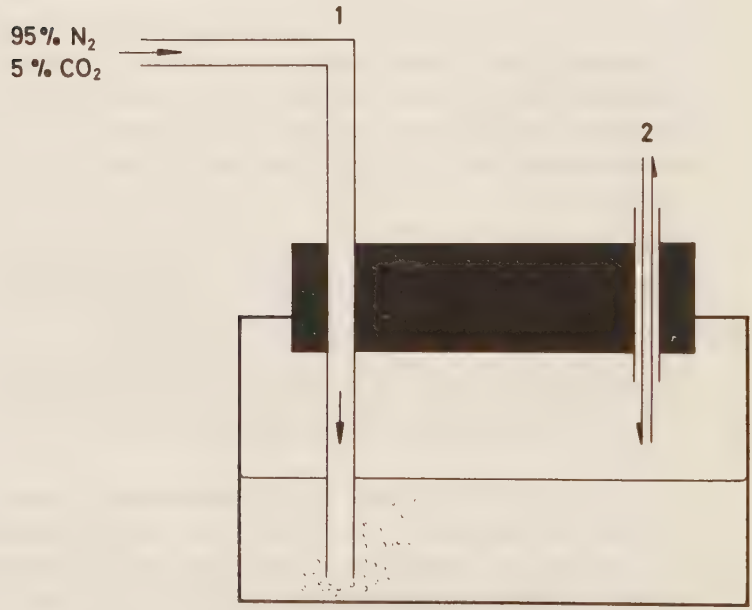


Abb. 2: Schematische Darstellung einer Flasche für Tyrodelösung mit doppeltgebohrtem Stopfen. Durch die Öffnung (1) wird O_2-freies, N_2 und CO_2-haltiges Gas zugeführt. Öffnung (2) stellt eine offene Verbindung zur Außenluft dar (Druckausgleich, O_2 kann entweichen, Pharmaka können zugegeben werden).

Der Muskel wäre hypoxischen Bedingungen ausgesetzt, wenn man eine normale Tyrodelösung evakuieren und ihr so den Sauerstoff entziehen würde. Bei diesem Vorgehen ist es aber unmöglich, der Lösung kurzfristig verschiedene Pharmaka zuzusetzen, wie dies zumindest für N.A. unerläßlich ist. Außerdem wäre der pH-Wert wesentlich beeinflußt worden. Es wurde daher folgendes Verfahren bevorzugt (Abb. 2).

Statt mit Carbogen wurde Tyrodelösung mit N_2, dem ebenfalls 5 % CO_2 zugesetzt waren, durchperlt. Die obere Öffnung des Vorratsbehälters wurde durch einen Stopfen verschlossen, der mit zwei kleinen Bohrungen versehen war. Durch die erste Bohrung (1) wurde N_2 eingeleitet, die andere (2) stellte eine Verbindung mit der Außenluft her. Da in der Flasche der Partialdruck von N_2 höher war als in der äußeren Atmosphäre, wurde bei einer ständigen Durchperlung mit der Zeit ein Teil des Sauerstoffs aus der Flasche verdrängt. Durch die zweite Bohrung (2) konnten zudem die Pharmaka zugegeben werden. Um bei allen Hypoxieversuchen möglichst gleichbleibende Bedingungen zu erhalten, wurde der Stickstoff jeweils 2o Minuten vor Verwendung der hypoxischen Lösung in die Hypoxieflaschen eingeleitet. Die so entstandene hypoxische Lösung wurde dem Muskel 1o Minuten lang zugeführt, bevor das jeweilige Pharmakon beigegeben wurde. Da der Muskel unter hypoxischen Bedingungen nach einer einmaligen Kontraktilitätssteigerung durch N.A. nicht mehr in der Lage war, ein zweites Mal adäquat zu reagieren (N.A. bedingt einen erhöhten O_2-Verbrauch), mußte der Muskel vor jedem Hypoxieversuch voll restituiert sein. Um standardisierte, vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wurde dem Muskel vor jedem Versuchsschritt nach vorausgehender vollständiger Restitution 1o Minuten lang die sauerstoffarme Lösung zugeführt; nach dieser Zeit konnte die pharmakologisch wirksame Substanz zugegeben werden. Bei der Interpretation muß berücksichtigt werden, daß das pH der hypoxischen Lösung nur 7,3 betrug.

8. Modifikationen des Versuchsablaufs bei der Untersuchung des N.A. - ACh-Antagonismus

Um einen wie auch immer gearteten Antagonismus von N.A. und ACh aufzuzeigen, kann man methodisch zwei verschiedene Wege einschlagen.

Methode I

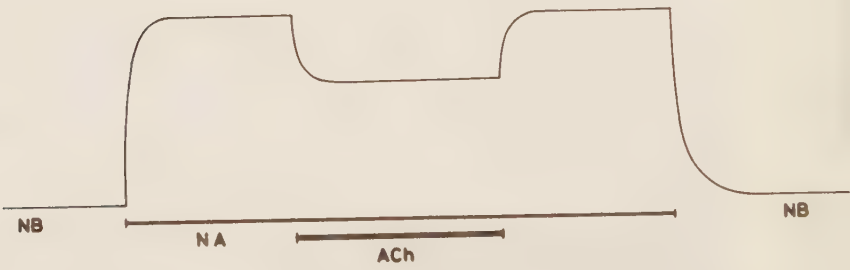


Abb. 4: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs nach Methode I. Auf die Applikation von N.A. folgt die Gabe des Gemisches N.A./ACh. Nach Absetzen von ACh nimmt die Kontraktionsamplitude wieder zu, da N.A. allein weiterwirkt.

Wenn die Amplitude unter Tyrodelösung eine gleichbleibende Höhe erreicht hat, appliziert man N.A. in der gewünschten Dosis. Hat der nun folgende Kontraktilitätszuwachs seinerseits den Gleichgewichtszustand erreicht, kann zusätzlich ACh zum bereits vorhandenen N.A. verabreicht werden. ACh ist dann imstande, die durch N.A.provozierte positive Inotropie um einen gewissen Betrag zu vermindern. Wenn sich

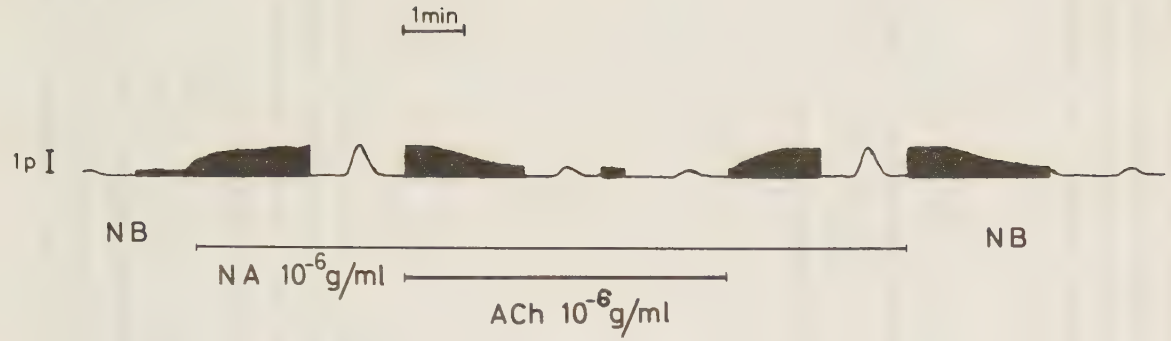


Abb. 3: Originalregistrierung eines Versuchs zur Untersuchung der ACh-Wirkung nach primärer Steigerung der Kontraktionsamplitude durch N.A. bei annähernd stöchiometrischen Dosisverhältnissen.
Von Normalbedingungen ausgehend (NB) wird die Kontraktionsamplitude durch N.A. gesteigert. Nachdem sich die Amplitude auf ein konstantes Niveau eingependelt hat, wird ACh zugegeben. Die Kontraktionsamplitude senkt sich daraufhin fast vollständig auf das Ausgangsniveau unter NB. Nach Absetzen von ACh steigt die Amplitude unter alleiniger Wirkung von N.A. wieder maximal an. Nach Absetzen von N.A. fällt die Kontraktionskraft wieder auf Werte, die denen zu Beginn des Versuches unter N.B. entsprechen.

die Kontraktionsamplitude unter dem Einfluß der Mischung von N.A. und ACh nicht mehr weiter senkt, wird ACh abgesetzt. Das weiterhin superfundierte N.A. wird die Kontraktionsamplitude wieder auf ihr altes Maß heraufsetzen müssen.

Methode II

Nach Methode II werden Dosiswirkungskurven erstellt, die den Antagonismus von N.A. und ACh über den Konzentrationsbereich von $1o^{-7}$ g/ml bis $1o^{-6}$ g/ml N.A. aufzeigen sollen.

a) ACh-unbeeinflußte Dosiswirkungskurven für N.A.

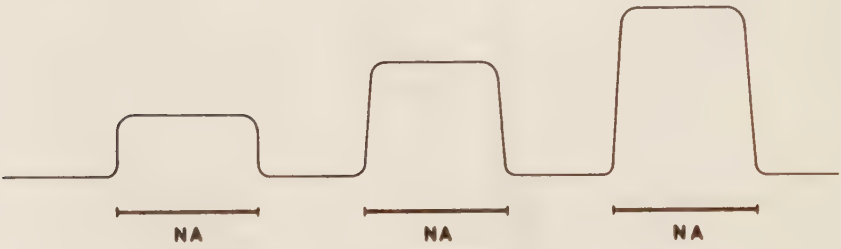


Abb. 5 a: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs nach Methode II, Teil a). Nach jeweils gleichlangen Zeitintervallen unter Kontrollbedingungen werden die verschiedenen N.A.-Konzentrationen verabreicht.

Wiederum von einem Gleichgewichtszustand unter Tyrodelösung ausgehend wird N.A. in verschiedenen Konzentrationen verabreicht. Um eine Dosiswirkungskurve für N.A. zu bekommen, wird mit der niedrigsten N.A.-Dosis begonnen. Zwischen den

einzelnen, in der Dosis steigenden N.A.-Dosen wird vor Gabe einer neuen Dosis jeweils abgewartet, bis unter dem Einfluß von einfacher Tyrodelösung die Kontrollbedingungen erreicht sind. Es wird so vermieden, daß sich die Effekte der einzelnen Dosen überlagern.

b) N.A.-Dosiswirkungskurven unter hemmendem ACh-Einfluß

Der Tyrodelösung wird ACh beigegeben, so daß mit der Nährlösung eine konstante ACh-Konzentration zugeführt wird. Wie bei den ACh-unabhängigen N.A.-Kurven wird N.A. auch hier in Intervallen und steigenden Dosen appliziert. Im Intervall zwischen den jeweiligen N.A.-Gaben werden die Kontrollbedingungen unter Tyrodelösung u n d ACh abgewartet, bevor der Muskel erneut durch N.A. stimuliert wird (Abb. 5 b).

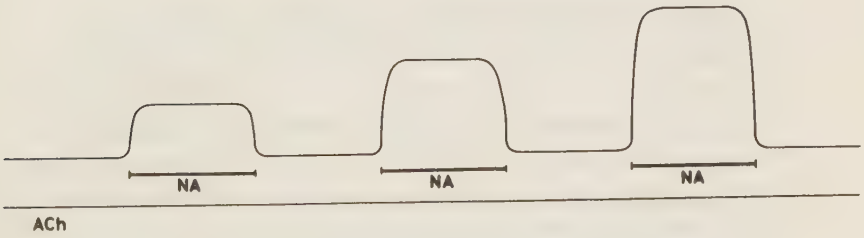


Abb. 5 b: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs nach Methode II, Teil b). Die Bedingungen entsprechen denen des Teils 5 a); während des gesamten Durchgangs wirkt eine konstante ACh-Konzentration auf den Muskel.

Für Methode I spricht, daß die Hemmung durch ACh sich sehr augenscheinlich abzeichnet und sofort zum dazugehörigen N.A.-Wert ausgemessen werden kann. Diese Methode hat jedoch den Nachteil, daß sich mit N.A. in einem kleinen Teil der Fälle kein vollkommener Gleichgewichtszustand erreichen läßt. Die initial bestehende positiv inotrope Kontraktionsamplitude fiel in manchen Fällen leicht, aber kontinuierlich und sichtbar ab, so daß nach einer Applikation von ACh nach mehreren Minuten die auf ACh zurückzuführende Amplitudenminderung graphisch mit Hilfe von Extrapolation ermittelt werden mußte. Daraus resultiert eine mögliche Fehlerquelle, die durch Anwendung der Methode II vermieden werden kann.

Daß sich aus den Versuchsanordnungen nach Methode I und II eventuell noch weiterreichende, grundsätzliche Fragen ergeben, wird sich an den Ergebnissen und deren Interpretation zeigen.

9. Beweis der vollständigen N.A.-Entspeicherung durch Reserpin

Zu Beginn eines jeden Versuchs wurde die Wirkung von Reserpin geprüft. Bei 1o-facher Schwellenspannung und Dreifachreizung in der Refraktärphase des Myokards mußte die Amplitude bei ausreichender Wirkung des Reserpins, d.h. bei praktisch vollständiger Entleerung der N.A.-Speicher, konstant bleiben.

Bei einem Teil der Experimente ergab sich bei diesem drastischen Vorgehen eine geringfügige Kontraktilitätsminderung während der Reizung, die auf eine Freisetzung von endogenem ACh zu beziehen ist (5, 24). Bei wenigen orientierenden, nicht in der Statistik verwerteten Versuchen war die Reserpinmenge zu niedrig angesetzt. In allen weiteren Versuchen erwies sich die verwendete

Reserpindosis als ausreichend, d.h. eine Testung nach den angeführten Kriterien zeigte, daß das Myokard bei Reserpindosen von 4 - 5 mg/kg Körpergewicht, verabreicht 24 Stunden vor Versuchsbeginn, vollkommen entspeichert war. Bei der Anwendung von höheren Dosen (mehr als 6 mg/kg Körpergewicht und Tag) stellte sich heraus, daß die Neigung des Muskels zu Spontanaktionen sehr groß war; es erhöht sich offenbar unter hohen Reserpindosen die Sensibilität für exogenes N.A. ganz entscheidend.

1o. Mathematische Bearbeitung der Ergebnisse

a) Statistische Analyse

Mit Hilfe des t-Testes (Student) wurden die einzelnen Stichprobenmittelwerte unter Angabe ihrer mittleren Streuung miteinander verglichen und auf ihre Signifikanz geprüft. Die Werte wurden berechnet nach einem Programm, das einem Olivetti-Tischcomputer eingespeichert worden war.

b) Beschreibung zweier unterschiedlicher Methoden der Darstellung und rechnerischen Bearbeitung der Versuchsergebnisse

1. Möglichkeit: Werte A - C (Abb. 6)

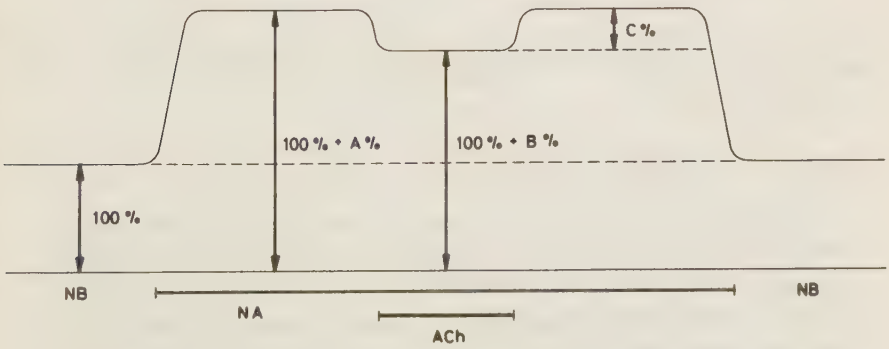


Abb. 6: Erläuterung siehe Text

A-Werte: Berechnung der Amplitudenzunahme in %, wenn die Ausgangsamplitude unter Tyrodelösung = 1oo % gesetzt wird. Diese "A-Werte" kommen zustande, wenn die Kontraktionshöhe durch Zugabe einer positiv inotrop wirkenden Substanz gesteigert wird.

B-Werte: Diese Werte erhält man, wenn die Kontraktionsamplituden nach Gabe eines positiv inotrop wirkenden Pharmakons u n d ACh mit den Amplituden unter Kontrollbedingungen verglichen werden. Die Ausgangsamplitude unter Tyrodelösung entspricht 1oo %.

C-Werte: Sie drücken die Amplitudendifferenz von A und B in % aus.

2. Möglichkeit: D-Werte (Abb. 7)

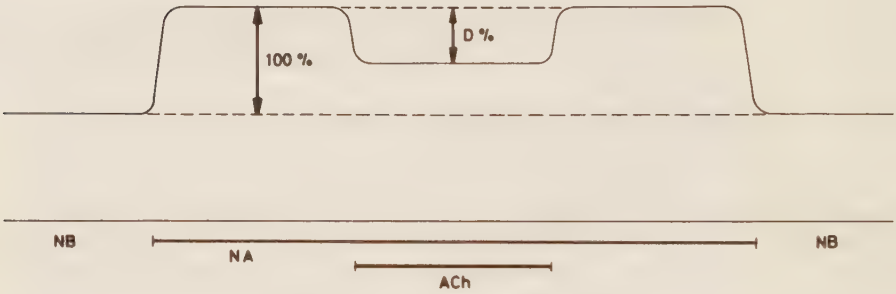


Abb. 7: Erläuterung siehe Text

Der durch eine positiv inotrop wirkende Substanz bedingte Amplitudenzuwachs wird = 1oo % gesetzt. Die darauffolgende Amplitudenminderung durch ACh wird als Prozentsatz dieser 1oo % ausgedrückt. Die D-Werte geben also an, um wieviel % ein positiver Zuwachs durch N.A. oder eine ähnliche positiv inotrop wirkende Substanz durch ACh wieder rückgängig gemacht werden kann.

III ERGEBNISSE

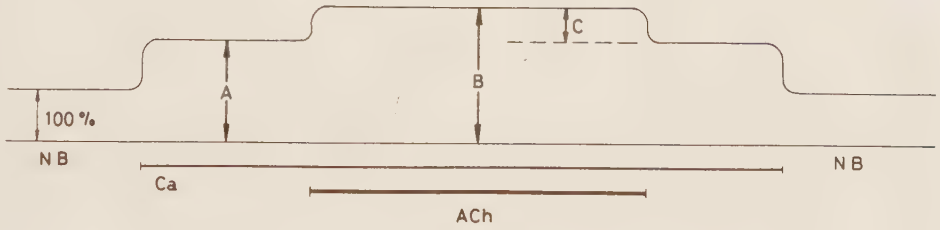
A. Untersuchungen zur Spezifität der antiadrenergen, negativ inotropen Wirkungskomponente von ACh

Es stellt sich die Frage, ob ACh in der Lage ist, eine positive Inotropie jeglicher Provenienz um einen gewissen Prozentsatz zu vermindern, oder ob ACh nur negativ inotrop wirksam werden kann, wenn die Positivierung der Inotropie katecholaminabhängig ist. In den folgenden Versuchen soll die Wirkung von exogenem ACh demonstriert werden, wenn die Zunahme der Kontraktionsamplitude durch Ca-Ionen, Strophanthin oder durch postextrasystolische Potenzierung erreicht worden ist. Daß Ca^{++} die Kontraktilität steigert, ist eine seit langem anerkannte Tatsache. Die positive Inotropie, die nach Strophanthinzusatz auftritt, ist möglicherweise durch eine erhöhte myoplasmatische Ca-Konzentration bedingt (25). Die Zunahme der Kontraktionsamplitude durch postextrasystolische Potenzierung beruht nach den gegenwärtig herrschenden Anschauungen auf einer veränderten intrazellulären Verteilung von ionisiertem Ca^{++} (2). Die exakte Frage lautet demnach: Kann ACh eine positive Inotropie herabsetzen, die durch Ca^{++} oder ähnlich wirkende Prinzipien (Strophanthin, postextrasystolische Potenzierung) hervorgerufen wurde?

1. ACh-Wirkung bei Ca^{++}-bedingter Kontraktilitätssteigerung

Aus Tabelle 1 sind die Kontraktilitätssteigerungen ersichtlich, die nach Applikation der Ca-Konzentration von 5,5 bzw. 1o,o mMol/l aufgetreten sind. (Die einfache Tyrodelösung enthielt 2,2 mMol/l). Die ACh-Konzentrationen betrugen $1o^{-6}$ bzw. $1o^{-5}$ g/ml. Man kann damit zwei Wertpaare aufstellen: ACh $1o^{-6}$ g/ml und 5,5 bzw. 1o,o mMol/l Ca^{++} einerseits u n d ACh $1o^{-5}$ und 5,5 bzw. 1o,o mMol/l Ca^{++} andererseits. In allen 11 Versuchen ließ sich ein statio-

KONZENTRATION		AMPLITUDE	AMPLITUDE			AMPLITUDE					AMPLITUDE	AMPLITUDE	
Ca^{++} mMol/l	ACh g/ml	N P rA	Ca^{++} rA	A %		Ca^{++}/ACh rA	B %		C %	D %	Ca^{++} rA	N B rA	n
5,5	10^{-6}	1,3	1,8	39,5	± 9,6	1,86	44,5	± 5,1	+5	+26	1,86	1,4	3
5,5	10^{-5}	1,43	1,85	31,0	± 4,9	1,8	28,0	± 7,9	−3	−12	1,8	1,4	2
10 0	10^{-6}	1,3	2,06	54,6	± 12,0	2,1	58,3	± 9,4	+3,7	+5	2,06	1,35	3
10,0	10^{-5}	1,2	1,7	46,1	± 13,0	1,6	45,3	± 9,6	−0,8	−20	1,95	1,3	3



Tab. 1: Tabellarische Zusammenstellung der Versuche mit Ca^{++} ohne Barbituratinsuffizienz. Von links nach rechts gelesen entsprechen die Werte dem Versuchsablauf; dies wird veranschaulicht durch das beigegebene Schema.
"rA" bedeutet "relative Amplitude" (cm); da das Meßsystem eine geringfügige Verkürzung des Muskels zuließ, wird auf eine Angabe der absoluten Kraftentwicklung verzichtet.
Die den Buchstaben A - D zugehörigen Zahlenwerte (%) sind die Mittelwerte der unter "n" angegebenen Zahl der jeweiligen Einzelversuche.
NB: Normal- oder Kontrollbedingungen.

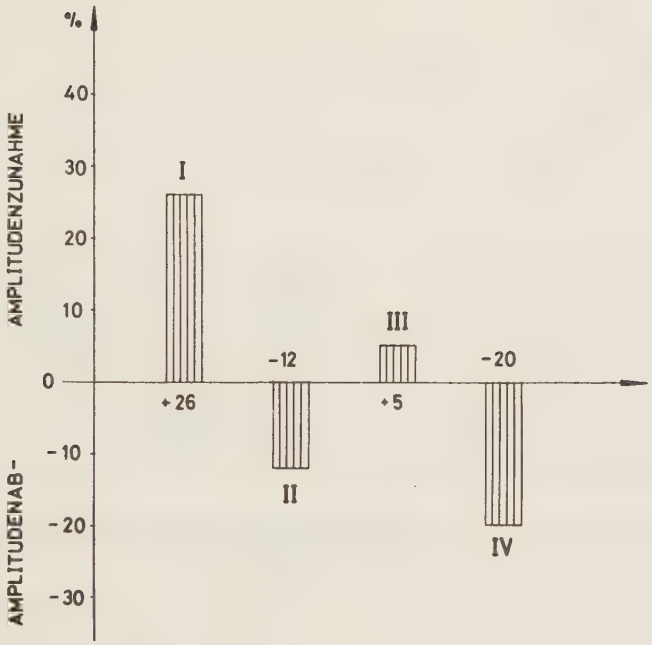


Abb. 8: Schematische Darstellung der Amplitudenänderung durch ACh; ACh wurde verabreicht, wenn die Kontraktionsamplitude nach Gabe von Ca^{++} einen konstanten Zuwachs erreicht hatte. Als Bezugslinie (O) gilt der Zustand nach Ca-bedingter Amplitudensteigerung. (Die Zahlenwerte entsprechen der Berechnungsweise D der Tabelle 1)

Konzentrationsangaben:

I : Ca^{++} 5,5 mMol/l -- ACh $1o^{-6}$ g/ml
II : Ca^{++} 5,5 mMol/l -- ACh $1o^{-5}$ g/ml
III : Ca^{++} 1o mMol/l -- ACh $1o^{-6}$ g/ml
IV : Ca^{++} 1o mMol/l -- ACh $1o^{-5}$ g/ml

närer Zustand der Kontraktilität durch die angegebenen Ca-Konzentrationen erreichen, so daß nach einer Kontraktilitätssteigerung durch Ca^{++} unmittelbar anschließend ACh verabreicht werden konnte (Methode I). ACh bewirkte in zwei Fällen, nämlich bei dem Wertepaar mit ACh $1o^{-6}$ g/ml eine leichte Zunahme (5 bzw. 2,7 %), in den beiden anderen Fällen bei ACh $1o^{-5}$ g/ml eine leichte Abnahme der isometrischen Amplitude (-3 bzw. - o,8 %).

Die geringfügige Abnahme der positiven Inotropie durch ACh ist nicht signifikant (p o,o5). Die erwähnten Amplitudenänderungen positiver oder negativer Art nach Applikation von ACh sind zwar in ihren Absolutwerten etwas größer, wenn sie nach der Berechnungsweise D ermittelt werden (Abb. 8), aber auch sie sind nicht signifikant verschieden vom Ausgangswert nach Steigerung der Ca-Konzentration.

2. ACh-Wirkung bei Ca^{++}-bedingter Kontraktilitätssteigerung nach primärer Barbituratinsuffizienz

Die Versuchsanordnung und die verwendeten Ca- und ACh-Konzentrationen sind dieselben wie bei III, A, 1. Der Muskel war aber in diesem Falle einer "Utilisationsinsuffizienz" durch Hexobarbital-Na in einer Konzentration von $1o^{-4}$ g/ml ausgesetzt. (Begründung der Barbituratinsuffizienz bei den N.A.-Versuchen.). Die ursprüngliche Amplitude verminderte sich nach genügend langer Hexobarbital-Exposition um ca. 5o %. Wenn diese Amplitudenänderung eingetreten war, blieb die verminderte Kontraktionshöhe in einem anhaltenden Gleichgewichtszustand, so daß die Werte vergleichbar und reproduzierbar sind.

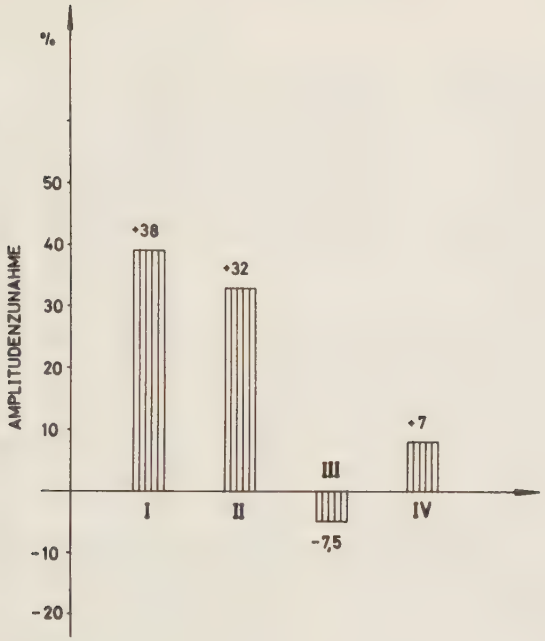
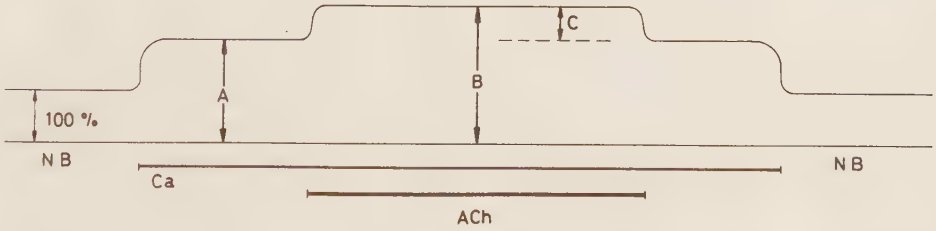


Abb. 9: Schematische Darstellung der Amplitudenänderung durch ACh; ACh wurde verabreicht, wenn die Kontraktionsamplitude nach Gabe von Ca^{++} einen konstanten Zuwachs erreicht hatte. Während des ganzen Versuchsablaufs unterliegt der Muskel einer Utilisationsinsuffizienz durch Hexobarbital.
Die Berechnung der Zahlenwerte der Säulen I - IV erfolgte nach der Rechenmethode D. Verwendet wurden folgende Konzentrationen:

I : Ca^{++} 5,5 mMol/l -- ACh $1o^{-6}$ g/ml
II : Ca^{++} 5,5 mMol/l -- ACh $1o^{-5}$ g/ml
III : Ca^{++} 1o,o mMol/l -- ACh $1o^{-6}$ g/ml
IV : Ca^{++} 1o,o mMol/l -- ACh $1o^{-5}$ g/ml

KONZENTRATION		AMPLITUDE	AMPLITUDE			AMPLITUDE				AMPLITUDE	AMPLITUDE	n
Ca^{++}	ACh	NB	Ca^{++}	A		Ca^{++}/ACh	B		C	Ca^{++}	NB	
mMol/l	g/ml	rA	rA	%		rA	%		%	rA	rA	
5,5	10^{-6}	1,3	1,95	52,0	± 11,0	2,2	72,0	± 18,0	+ 20,0	2,2	1,4	2
5,5	10^{-5}	1,35	2,15	63,0	± 18,0	2,4	82,5	± 35,0	+ 19,5	2,15	1,4	2
10,0	10^{-6}	1,45	2,8	91,5	± 8,5	2,7	86,5	± 0,5	- 5,0	3,0	1,5	2
10,0	10^{-5}	1,6	3,0	84,5	± 1,5	3,1	92,5	± 3,4	+ 8,0	3,0	1,7	2



Tab. 2: Tabellarische Zusammenstellung der Versuche mit Ca^{++} unter den Bedingungen der Barbituratinsuffizienz ($1o^{-4}$ g/ml Hexobarbital-Na). Von links nach rechts gelesen entsprechen die Werte dem Versuchsablauf; dies wird veranschaulicht durch das beigegebene Schema.
"rA" bedeutet "relative Amplitude" (cm); da das Meßsystem eine gewisse Verkürzung des Muskels zuließ, wird auf eine Angabe der absoluten Kraftentwicklung verzichtet.
Die den Buchstaben A - D zugehörigen Zahlenwerte (%) sind die Mittelwerte der unter "n" angegebenen Zahl der jeweiligen Einzelversuche.
NB: Normal- oder Kontrollbedingungen.

In 8 Versuchen wurden die unter III, A, 1 genannten Wertepaare durchgetestet. Es ergab sich dabei folgendes Bild (Tab. 2 und Abb. 9):

Dreimal stieg die Amplitude des Mechanogramms nach ACh-Applikation weiter an, und zwar um 2o, 19 und 8 %. Einmal sank die Amplitude um 5 % (nicht signifikant). Auch hier sind die D-Werte auf Grund der andersartigen Berechnungsweise absolut gesehen höher. Dies hat jedoch auf die Aussage der Ergebnisse keinen Einfluß, da auch diese Differenzen statistisch insignifikant sind.

Obwohl die Ca-bedingte Amplitudensteigerung gegenüber Kontrollbedingungen (suffizienter Muskel) um 3o % größer war, stellte sich keineswegs eine signifikante Verminderung der Amplitude nach ACh ein, sondern vielmehr eine noch ausgeprägtere Amplitudensteigerung.

3. ACh-Wirkung bei Strophanthin-bedingter Kontraktilitätssteigerung nach primärer Barbituratinsuffizienz

Um ausgeprägte Effekte zu gewährleisten, wurden diese Versuche mit Strophanthin gleichfalls nach primärer Kontraktilitätsverminderung durch Hexobarbital-Na ($1o^{-4}$ g/ml) durchgeführt (Abb. 1o und Tab. 3).

Auch hier liegen zwei Wertepaare vor: 1) ACh $1o^{-6}$ g/ml und Strophanthin in der Konzentration von $1o^{-7}$ bzw. $2,5 \times 1o^{-7}$ g/ml; 2) ACh $1o^{-5}$ g/ml und gleiche Strophanthinkonzentrationen wie bei 1). Vor Gabe von ACh war in allen vier Fällen ein Gleichgewichtszustand vorhanden. In drei Fällen blieb die Strophanthinamplitude nach ACh-Gabe unverändert (Abb. 1o); in einem Fall trat bei den Konzentrationen ACh $1o^{-6}$ g/ml und Strophanthin $1o^{-7}$ g/ml eine Amplitudensteigerung um 2o % nach ACh-Applikation auf.

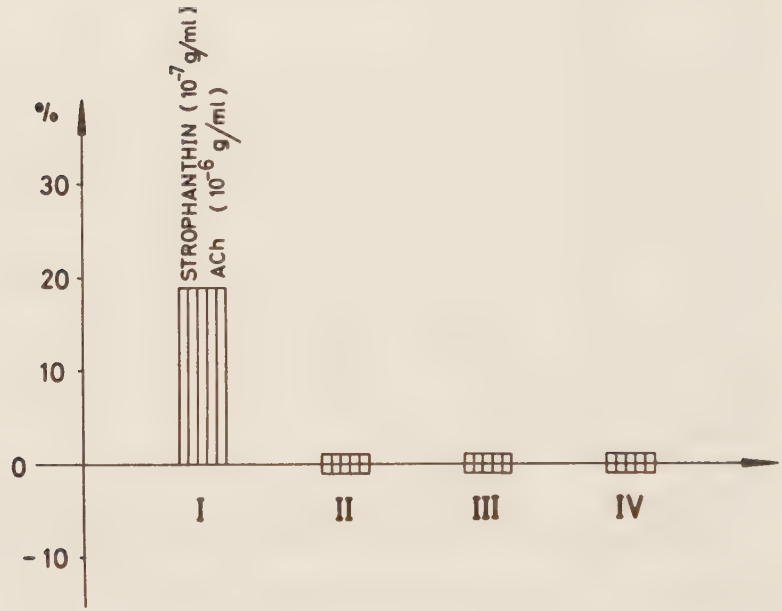
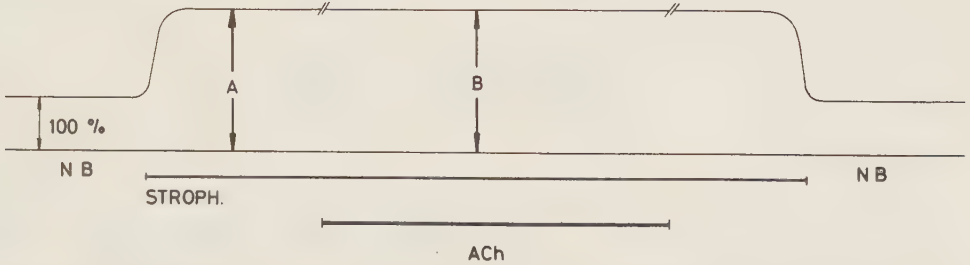


Abb. 1o: Schematische Darstellung der Amplitudenänderung durch ACh; ACh wurde verabreicht, wenn die Kontraktionsamplitude nach Gabe von Strophanthin einen konstanten Zuwachs erreicht hatte. Während des ganzen Versuchsablaufs unterliegt der Muskel einer "Utilisationsinsuffizienz" durch Hexobarbital. Die Berechnung der Zahlenwerte der Säulen I - IV erfolgte nach der Rechenmethode D. Verwendet wurden folgende Konzentrationen:

I : Strophanthin $1o^{-7}$ g/ml -- ACh $1o^{-6}$ g/ml
II : Strophanthin $1o^{-7}$ g/ml -- ACh $1o^{-5}$ g/ml
III : Strophanthin $2{,}5x1o^{-7}$ g/ml -- ACh $1o^{-6}$ g/ml
IV : Strophanthin $1{,}2x1o^{-7}$ g/ml -- ACh $1o^{-5}$ g/ml

KONZENTRATION		AMPLITUDE	AMPLITUDE		AMPLITUDE				AMPLITUDE	AMPLITUDE	n
Stroph. g/ml	ACh g/ml	N B r A	Stroph. r A	A %	Stroph/ACh r A	B %	C %	D %	Stroph. r A	N B r A	
10^{-7}	10^{-6}	0,5	1,05	110	1,15	130	+ 20	+ 18	1,02	0,7	1
10^{-7}	10^{-5}	0,7	1,3	85,5	1,3	85,5	± 0	± 0	1,4	0,4	1
$2,5 \cdot 10^{-7}$	10^{-6}	0,9	1,25	39	1,25	39	± 0	± 0	1,45	1,0	1
$2,5 \cdot 10^{-7}$	10^{-5}	0,9	1,6	75	1,6	75	± 0	± 0	1,7	0,9	1



Tab. 3: Tabellarische Zusammenstellung der Versuche mit Strophanthin unter den Bedingungen der Barbituratinsuffizienz ($1o^{-4}$ g/ml Hexobarbital-Na). Von links nach rechts gelesen entsprechen die Werte dem Versuchsablauf; dies wird veranschaulicht durch das beigegebene Schema.
"rA" bedeutet "relative Amplitude" (cm); da das Meßsystem eine gewisse Verkürzung des Muskels zuließ, wird auf eine Angabe der absoluten Kraftentwicklung verzichtet.
Die den Buchstaben A - D zugehörigen Zahlenwerte (%) sind die Mittelwerte der unter "n" angegebenen Zahl der jeweiligen Einzelversuche.
NB: Normal- oder Kontrollbedingungen.

4. ACh-Wirkung unter den Bedingungen postextrasystolischer Potenzierung

In 12 Versuchen wurde die ACh-Wirkung nach Kontraktilitätssteigerung durch postextrasystolische Potenzierung untersucht. Durch Stimulation mit Doppelimpulsen ergab sich eine durchschnittliche Amplitudenzunahme von 45 - 52 %. Es war jedoch sehr schwierig, während dieser Stimulation einen anhaltenden Gleichgewichtszustand zu erreichen.

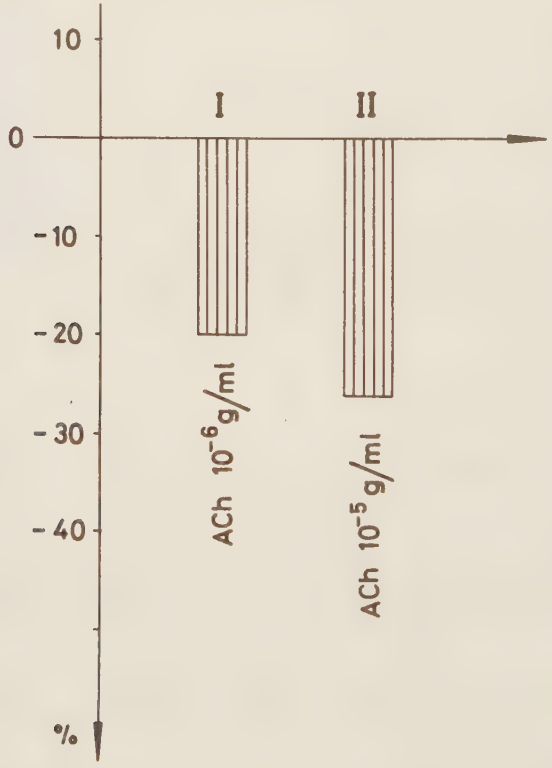
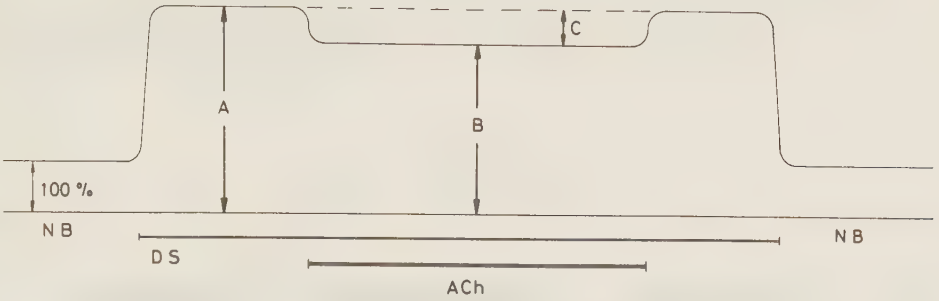


Abb. 11: Schematische Darstellung der Amplitudenänderung durch ACh; ACh wurde verabreicht, wenn die Kontraktionsamplitude durch Stimulation mit Doppelimpulsen einen konstanten Zuwachs erreicht hatte. (Berechnung der Zahlenwerte nach Methode D).

KONZENTRATION	AMPLITUDE	AMPLITUDE			AMPLITUDE					AMPLITUDE	AMPLITUDE	n
ACh	NB	DS	A		DS/ACh	B		C	D	DS	NB	
g/ml	rA	rA	%		rA	%		%	%	rA	rA	
10^{-6}	1,65	2,4	50,4	± 8,7	2,25	43,7	± 11,2	- 6,7	- 20	2,1	0,5	6
10^{-5}	0,95	1,45	45,5	± 6,3	1,32	34,0	± 6,3	- 11,5	- 2,6	1,25	0,33	5



Tab. 4: Tabellarische Zusammenstellung der Versuche unter den Bedingungen der postextrasystolischen Potenzierung. "DS" bedeutet "Stimulation mit Doppelstimuli". Von links nach rechts gelesen entsprechen die Werte dem Versuchsablauf; dies wird veranschaulicht durch das beigegebene Schema.
"rA" bedeutet "relative Amplitude" (cm); da das Meßsystem eine gewisse Verkürzung des Muskels zuließ, wird auf eine Angabe der absoluten Kraftentwicklung verzichtet.
Die den Buchstaben A - D zugehörigen Zahlenwerte (%) sind die Mittelwerte der unter "n" angegebenen Zahl der jeweiligen Einzelversuche.
NB: Normal- oder Kontrollbedingungen.

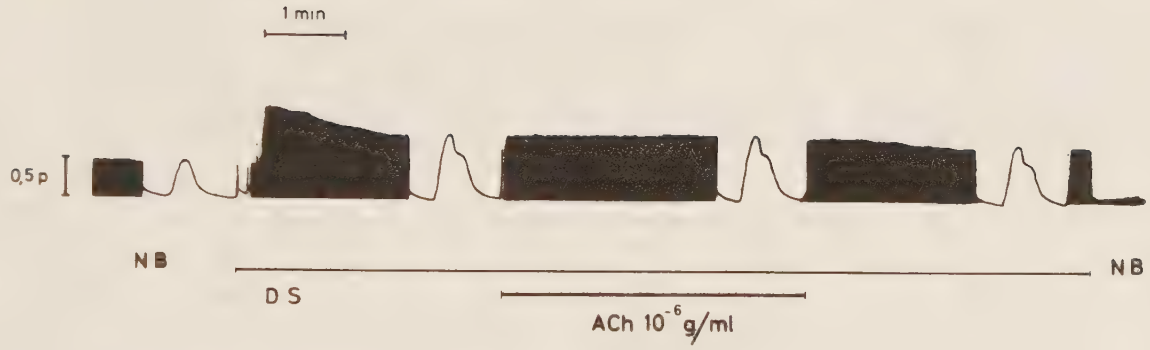


Abb. 12: Originalregistrierung eines Versuchs zur Untersuchung der ACh-Wirkung unter den Bedingungen der postextrasystolischen Potenzierung. Von Normalbedingungen ausgehend wird der Muskel mit Doppelstimuli gereizt. Es tritt eine erhebliche Steigerung der Kontraktionsamplitude ein, die sich jedoch binnen 1 Minute auf einen etwas niedrigeren Gleichgewichtszustand reduziert. Zugabe von ACh vermag diese gleichbleibende Kontraktionsamplitude nicht mehr weiter zu senken.

In der Regel fiel die Amplitude nach anfänglich überschießender Kontraktilitätssteigerung kontinuierlich ab, so daß sich nach Übergang auf Einzelimpulse die Amplitude meist auf Werte verminderte, die weit unter dem Ausgangsniveau bei Kontrollbedingungen lagen. Nach genügend langer Wartezeit erholte sich der Muskel aber meist wieder vollständig, ohne irgendwelche Anzeichen einer bleibenden Schädigung erkennen zu lassen. Unter den Bedingungen der Postextrasystolischen Potenzierung konnte nach ACh-Applikation eine mäßige Amplitudenminderung nachgewiesen werden; diese Effekte sind aber sehr gering (Tab. 4). Die Ergebnisse besitzen nicht dieselbe Aussagekraft wie die unter III, A, 1, 2, 3 geschilderten Befunde, da die Werte der Amplitudensenkung nach ACh teilweise graphisch ermittelt und extrapoliert werden mußten. Unter diesen Voraussetzungen ergibt sich eine Minderung der Amplitude nach ACh $1o^{-6}$ g/ml um 6,7 % und nach ACh $1o^{-5}$ g/ml um 11,5 %. Auch diese Werte unterscheiden sich nicht signifikant von der Vergleichsamplitude unter den Bedingungen postextrasystolischer Potenzierung.

Da eine Applikation von Ca-Ionen einerseits und eine Anwendung von Doppelstimuli andererseits bezüglich ihres Wirkungsmechanismus einer Kontraktilitätssteigerung nach heutiger Auffassung wesentliche Gemeinsamkeiten aufweisen, war nach den vorigen Ergebnissen (III, A, 1, 2, 3) auch keine signifikante Amplitudensenkung durch ACh zu erwarten.

B. Untersuchungen zum Wirkungsantagonismus von exogenem N.A. und exogenem ACH

Wenn die Kontraktionsamplitude des Papillarmuskels durch N.A. gesteigert werden kann, so läßt sie sich regelmäßig wieder um einen gewissen Prozentsatz vermindern, wenn zusätzlich ACh appliziert wird. Wird ACh nach genügend langer Einwirkungszeit des Gemischs N.A. und ACh abgesetzt, so erreicht die Kontraktionsamplitude in der Regel wieder ihre ursprüngliche Höhe.

1. Ergebnisse nach Methode I (ACh nach primärer Kontraktilitätssteigerung durch N.A.)

a) Versuche unter Normalbedingungen

In 16 Versuchen wurde nach Methode I vorgegangen. Legt man Berechnungsmethode A zugrunde, so wird die Ausgangsamplitude unter Tyrodelösung nach N.A.-Gabe von $1o^{-6}$ g/ml um 167 %, d.h. auf einen Endwert von 267 % gesteigert; dazuhin appliziertes ACh in der Konzentration von $1o^{-6}$ g/ml vermindert diese vorausgegangene Steigerung um 132 % (C) auf 35 % (B) (Tab. 5). Berechnet man die Amplitudenminderung nach ACh-Gabe, indem man den reinen Zuwachs der Amplitude nach N.A.-Zufuhr = 1oo % setzt, so zeigt sich, daß dieser Zuwachs um 79 % (D) auf 21 % herabgesetzt werden kann (Abb. 13). Demnach wird die N.A.-bedingte Amplitudenzunahme weitgehend rückgängig gemacht.

Nicht ganz so eindeutig lautet das Ergebnis, wenn man dieselbe Versuchsreihe (3 Versuche) mit den Konzentrationen N.A. $1o^{-6}$ g/ml und ACh $1o^{-5}$ g/ml durchführt. Bei diesen Versuchen wurde ein N.A.-bedingter Zuwachs von 181 % erzielt; durch ACh $1o^{-5}$ g/ml wurde der Zuwachs um 93 % (C) auf 88 % (B) rückgängig gemacht. Legt man die Berechnungsweise nach D zugrunde, d.h. setzt man den reinen N.A.-Zuwachs = 1oo %, so sieht man, daß von diesen 1oo % nur 52,6 % (D) weggenommen werden können (Tab. 5, Abb. 13).

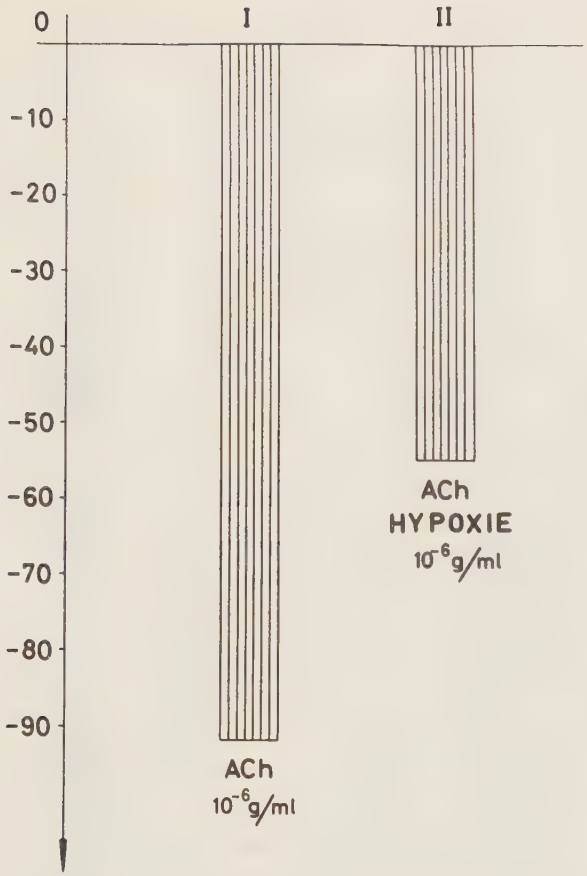
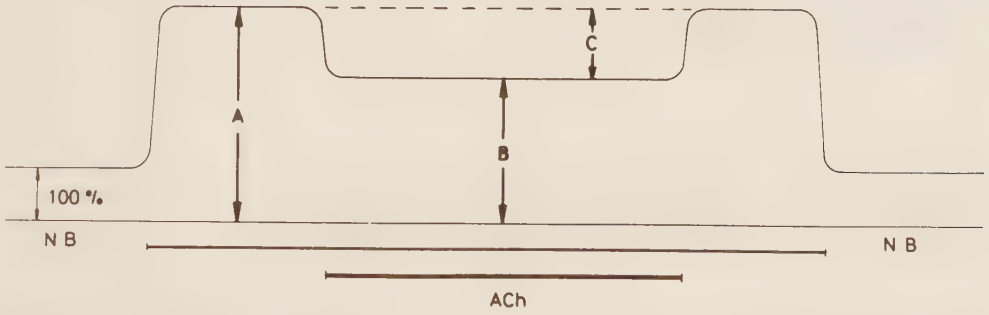


Abb. 13: Schematische Darstellung der ACh-bedingten Amplitudenänderung bei Kontraktilitätssteigerung durch N.A. Bei I herrschen Normalbedingungen, bei II unterliegt der Muskel kontrolliertem Sauerstoffentzug. Die Kontraktilität wurde gesteigert durch N.A. in der Konzentration von $1o^{-6}$ g/ml. Die ACh-Konzentration von $1o^{-6}$ g/ml vermindert die Amplitude um 79 % bzw. 55 % unter hypoxischen Bedingungen (Berechnung der Zahlenwerte nach Methode D). Konzentrationsangaben:

I : N.A. $1o^{-6}$ g/ml u n d ACh $1o^{-6}$ g/ml
II : N.A. $1o^{-6}$ g/ml u n d ACh $1o^{-6}$ g/ml bei kontrolliertem Sauerstoffentzug.

KONZENTRATION		AMPLITUDE	AMPLITUDE			AMPLITUDE				AMPLITUDE	AMPLITUDE	n
NA	ACh	NB	NA	A		NA/ACh	B	C	D	NA	NB	
g/ml	g/ml	r A	r A	%		r A	%	%	%	r A	r A	
10^{-6}	10^{-6}	0,65	1,3	167,0	± 32	0,7	35,0	± 10 -132	-79	1,3	0,4	16
10^{-6}	10^{-5}	0,6	1,55	181,3	± 52	1,05	88,3	± 35 -93	-52,6	1,55	0,65	3



Tab. 5: Tabellarische Zusammenstellung der Versuche zum Wirkungsantagonismus von N.A. und ACh. Von links nach rechts gelesen entsprechen die Werte dem Versuchsablauf; dies wird veranschaulicht durch das beigegebene Schema.
"rA" bedeutet "relative Amplitude" (cm); da das Meßsystem eine gewisse Verkürzung des Muskels zuließ, ird auf eine Angabe der absoluten Kraftentwicklung verzichtet.

Die den Buchstaben A - D zugehörigen Zahlenwerte (%) sind die Mittelwerte der unter "n" angegebenen Zahl der jeweiligen Einzelversuche.
NB: Normal- oder Kontrollbedingungen.

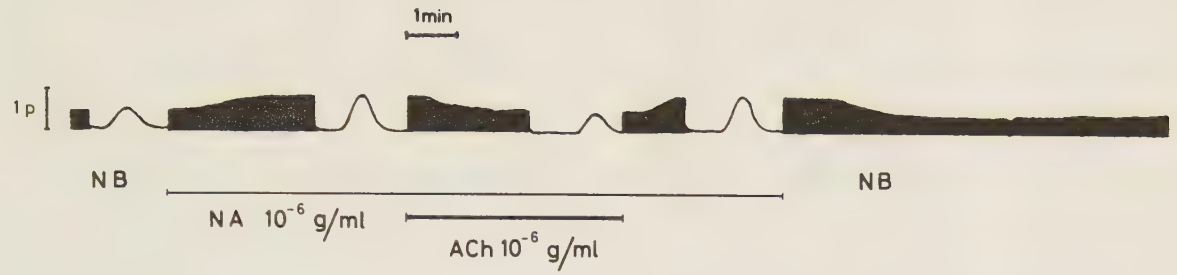


Abb. 14: Originalregistrierung eines Versuchs zur Untersuchung der ACh-Wirkung nach primärer Steigerung der Kontraktionsamplitude durch N.A. bei annähernd stöchiometrischen Dosisverhältnissen.
Von Normalbedingungen ausgehend (NB) wird die Kontraktionsamplitude durch N.A. gesteigert. Nachdem sich die Amplitude auf ein konstantes Niveau eingependelt hat, wird ACh zugegeben. Die Kontraktionsamplitude geht daraufhin auf das Ausgangsniveau unter NB zurück. Trotz konstanter N.A.-Superfusion ist ein Katecholamineffekt nicht mehr festzustellen. Nach Absetzen von ACh steigt die Amplitude unter alleiniger Wirkung von N.A. wieder maximal an. Nach Absetzen von N.A. fällt die Kontraktionskraft wieder auf Werte, die denen zu Beginn des Versuches unter NB entsprechen.

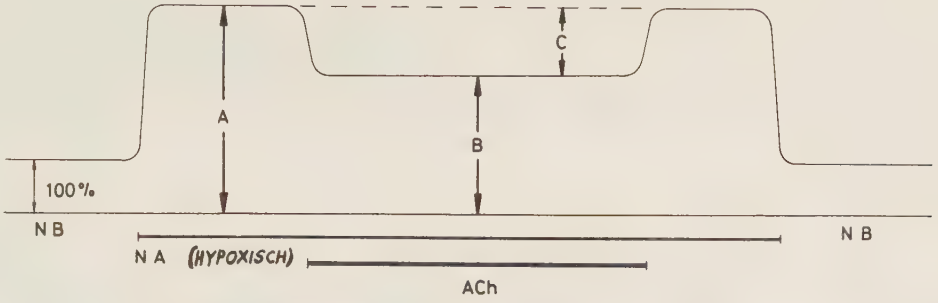
Der scheinbar geringere antiadrenerge Effekt bei der ACh-Konzentration von $1o^{-5}$ g/ml könnte neben individuellen Unterschieden der Ansprechbarkeit vorwiegend auf eine positiv inotrope Eigenkomponente, die nach der Literatur ab ACh-Konzentrationen von $1o^{-5}$ g/ml auftreten kann (12), zurückzuführen sein.

b) Versuche unter hypoxischen Bedingungen

Auch in diesem Falle beträgt die Steigerung der Amplitude nach N.A. $1o^{-6}$ g/ml 186 % (A). ACh vermindert diese Amplitude um 1oo % (C) auf 86 % (B). Vom reinen N.A.-Zuwachs werden durch ACh jedoch nur 55 % (D) zurückgenommen (Tab. 6, S. 41; Abb. 13, S. 37).

Das Ausmaß der Amplitudensenkung nach ACh-Gabe ist aber sowohl bei a) wie auch bei b) so groß, daß die Differenz der Kontraktionsamplituden mit und ohne ACh statistisch signifikant ist.

KONZENTRATION		AMPLITUDE	AMPLITUDE		AMPLITUDE				AMPLITUDE	AMPLITUDE	
NA	ACh	NB	NA	A	NA/ACh	B	C	D	NA	NB	
(g/ml)	(g/ml)	rA	rA	%	rA	%	%	%	rA	rA	n
10^{-6}	10^{-6}	0,97	2,8	186,0 ± 31	1,8	85,8 ± 23,0	-100,2	-55	2,6	0,5	6



Tab. 6: Tabellarische Zusammenstellung der Versuche zum Wirkungsantagonismus von N.A. und ACh unter hypoxischen Bedingungen. Von links nach rechts gelesen entsprechen die Werte dem Versuchsablauf; dies wird veranschaulicht durch das beigegebene Schema.
"rA" bedeutet "relative Amplitude" (cm); da das Meßsystem eine gewisse Verkürzung des Muskels zuließ, wird auf eine Angabe der absoluten Kraftentwicklung verzichtet.
Die den Buchstaben A - D zugehörigen Zahlenwerte (%) sind die Mittelwerte der unter "n" angegebenen Zahl der jeweiligen Einzelversuche.
NB: Normal- oder Kontrollbedingungen.

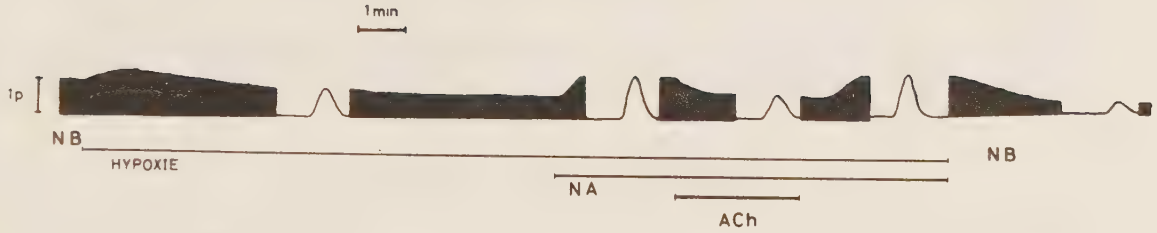


Abb. 15: Originalregistrierung eines Versuchs zur Untersuchung der ACh-Wirkung nach primärer Steigerung der Kontraktionsamplitude durch N.A. unter den Bedingungen einer standardisierten Hypoxie.
Auch unter diesen Bedingungen kann ein durch N.A. bedingter Zuwachs der Kontraktionsamplitude durch ACh nahezu vollständig rückgängig gemacht werden. (Konzentrationen: N.A. $1o^{-6}$ g/ml; ACh $1o^{-6}$ g/ml)

2. Ergebnisse nach Methode II (Hemmung einer N.A.-bedingten Kontraktilitätssteigerung durch primäre ACh-Applikation)

a) Versuche unter Normalbedingungen

In 8 Versuchsreihen wurden Dosiswirkungskurven mit N.A.-Konzentrationen von 10^{-7}, 5 x 10^{-7} und 10^{-6} g/ml erstellt. Für

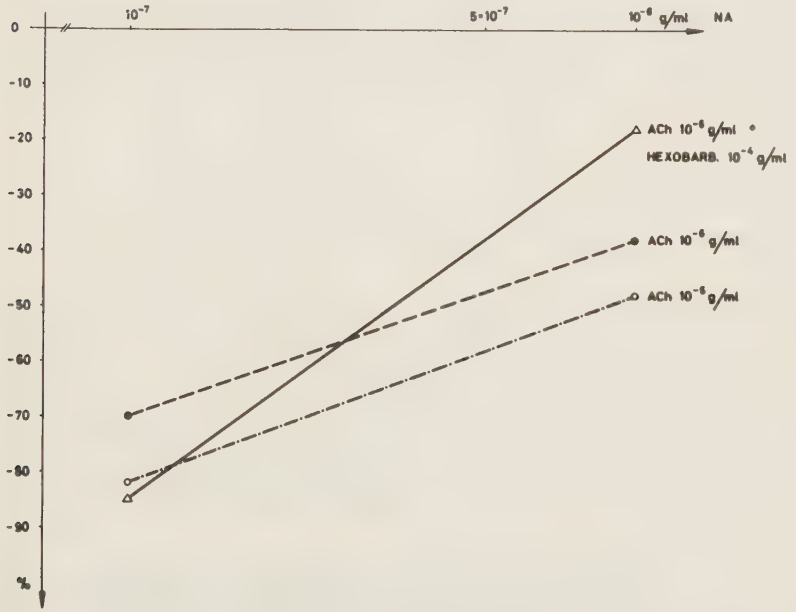


Abb. 16: Logarithmische Auftragung der Amplitudenminderung in % (Berechnungsweise D). Es wird gezeigt, um wieviel % die ACh-Konzentrationen von 10^{-6} und 10^{-5} g/ml den N.A.-bedingten Amplitudenzuwachs vermindern können. Es wurden die N.A.-Konzentrationen 10^{-7}, 5 x 10^{-7} und 10^{-6} g/ml verwendet. Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Werte bei primärer Utilisationsinsuffizienz durch Hexobarbital.

die sogenannten ungehemmten Kurven wurden die N.A.-Konzentrationen allein appliziert, die sogenannten "gehemmten" Kurven entstanden nach Verabreichung von N.A. u n d ACh $1o^{-6}$ bzw. $1o^{-5}$ g/ml gemeinsam.

Wie aus Abb. 17 ersichtlich, ergibt sich durch ACh eine Verlagerung der "ungehemmten Kurve" von durchschnittlich 4o - 5o %, wobei die Hemmung durch ACh $1o^{-5}$ g/ml um 2 - 3 % größer ist als die durch ACh $1o^{-6}$ g/ml. Bei logarithmischer Auftragung liegen die drei Wertepaare auf einer Geraden. Berechnet man die Hemmwerte nach dem reinen N.A.-bedingten Zuwachs (= 1oo %, Berechnungsweise D),so kommt man zu der in Abb. 16 gegebenen Darstellung.

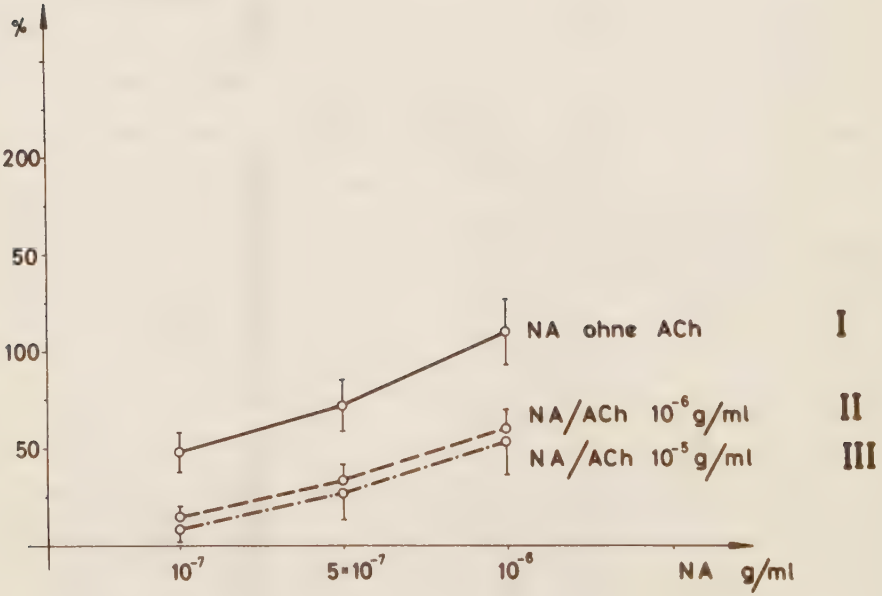


Abb. 17: Graphische Darstellung der Dosiswirkungskurven, die nach Methode II erstellt wurden. Die Versuchsreihe wurde unter Normalbedingungen durchgeführt. Tabella-

rische Zusammenstellung der einzelnen Kurvenwerte in %; die römische Zahl entspricht der Bezeichnung in der Abbildung:

N.A.-Konz. (g/ml)	N.A. rA (%)	N.A./ACh $1o^{-6}$ rA (%)	N.A./ACh $1o^{-5}$ rA (%)
$1o^{-7}$	43,o ± 9,o	8,1 ± 4,1	6,o ± 2,4
$5x1o^{-7}$	69,5 ± 11,6	3o,o ± 7,6	27,6 ± 6,7
$1o^{-6}$	114,6 ± 16,9	56,2 ± 12,5	52,o ± 6,8
	I	II	III

Die Durchschnittswerte ($\bar{x} \pm s$) sind aus 8 Versuchsreihen gewonnen. rA bedeutet "relative Amplitude".

Wie Abb. 17 zu entnehmen, ist die prozentuale Hemmwirkung von ACh $1o^{-6}$ g/ml bei N.A.-Konzentrationen von $1o^{-7}$ g/ml am deutlichsten (um 8o %); dies entspricht dem Ergebnis von III, B, 1, a. Die prozentuale Hemmwirkung ist geringer bei N.A. in der Konzentration von 5 x $1o^{-7}$ g/ml (um 5o %) und beträgt ungefähr 4o % (bezogen auf den Zuwachs), wenn die Konzentrationen von N.A. und ACh in nahezu stöchiometrischen Verhältnissen vorliegen.

b) Versuche nach primärer Hexobarbitalinsuffizienz

Wenn der Muskel in vier Versuchsreihen mit Hexobarbital-Na in der Konzentration von $1o^{-4}$ g/ml vorbehandelt wurde und sich seine Kontraktionsamplitude auf etwa 5o % seiner Ausgangsamplitude unter Normalbedingungen vermindert hat, erhält man bei gleichem Vorgehen wie in III, B, 2, a folgendes Ergebnis (Abb. 18):
Die prozentuale Zunahme unter N.A. ist beim insuffizienten Muskel wesentlich größer: N.A. $1o^{-7}$ g/ml erbringt eine Zunahme

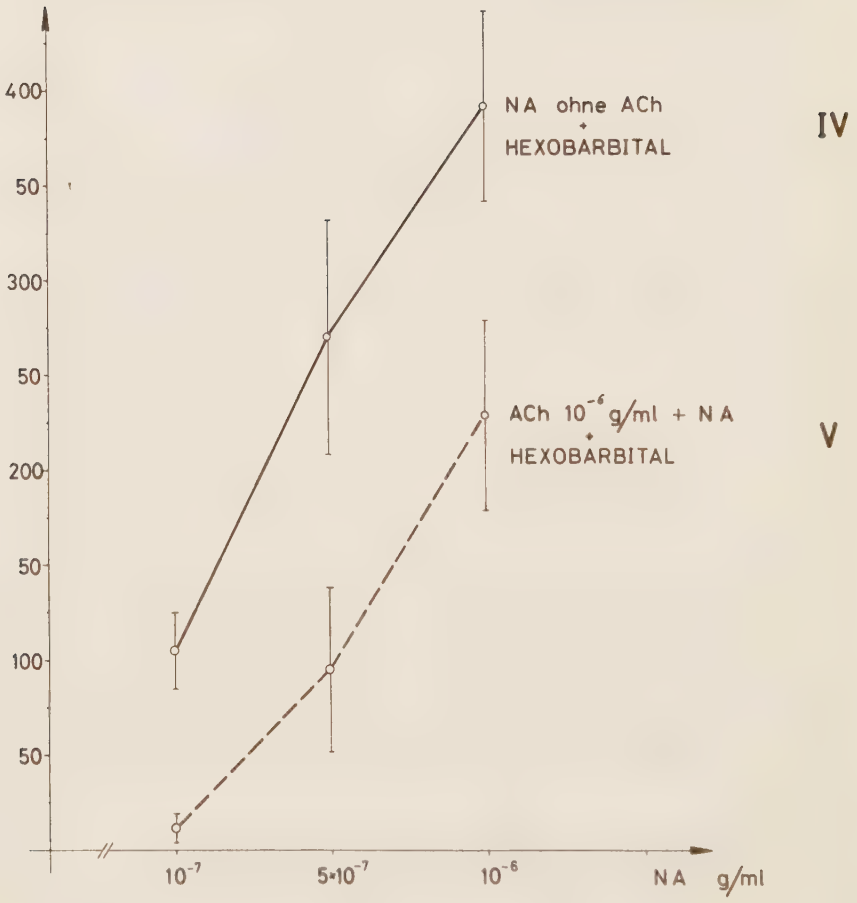


Abb. 18: Graphische Darstellung der Dosiswirkungskurven, die nach Methode II erstellt wurden. Die Muskeln dieser Versuchsreihe unterlagen einer "Utilisationsinsuffizienz" durch Hexobarbital-Na in der Konzentration $1o^{-4}$ g/ml.

Tabellarische Zusammenstellung der einzelnen Kurvenwerte der Abb. 18 in %; die römische Zahl entspricht der Bezeichnung in der Abbildung:

N.A.-Konz. (g/ml)	N.A. rA (%)	N.A./ACh $1o^{-6}$ g/ml rA (%)
$1o^{-7}$	1o5 ± 19,4	9,75 ± 4,3
$5x1o^{-7}$	271 ± 72,9	91,o ± 42
$1o^{-6}$	389 ± 69,2	229 ± 51
	IV	V

Die Durchschnittswerte ($\bar{x} \pm s$) sind aus 4 Versuchsreihen gewonnen. rA bedeutet "relative Amplitude".

um 1o5 %, 5 x $1o^{-7}$ g/ml um 271 % und $1o^{-6}$ g/ml um 389 %, wenn man die Werte auf die Kontrollamplitude unter Tyrodelösung bezieht. Entsprechend ist auch unter ACh $1o^{-6}$ g/ml der Hemmeffekt beim insuffizienten Muskel ausgeprägter: für N.A. $1o^{-7}$ g/ml beträgt die Herabsetzung durch ACh $1o^{-6}$ g/ml 95 %, für N.A. 5 x $1o^{-7}$ g/ml 18o % und für N.A. $1o^{-6}$ g/ml 16o % (gerundete Prozentzahlen).

Um dieses Ergebnis mit den Befunden am suffizienten Muskel besser vergleichen zu können, ist es vorteilhaft, den durch N.A.-bedingten Amplitudenzuwachs als Bezugswert (1oo %) zu betrachten (Berechnungsweise D). Nach dieser Berechnungsweise hemmt ACh $1o^{-6}$ g/ml die Kontraktionsamplitude nach N.A. $1o^{-7}$ g/ml um 84,5 %, die nach 5 x $1o^{-7}$ g/ml um 43,5 % und die nach $1o^{-6}$ g/ml um 17 % (Abb. 17).

Die Kurve der prozentualen Hemmfähigkeit von ACh $1o^{-6}$ g/ml (Abb. 16) verläuft also unter Insuffizienzbedingungen etwas steiler als unter Normalbedingungen.

3. Vergleich der Ergebnisse nach Methode I und II

Bei III, B, 1 wurde ACh erst verabreicht, wenn nach erfolgter Zunahme der Kontraktionsamplitude durch N.A. ein Gleichgewichtszustand erreicht war, d.h. ACh wurde erst einige Minuten nach N.A. appliziert.

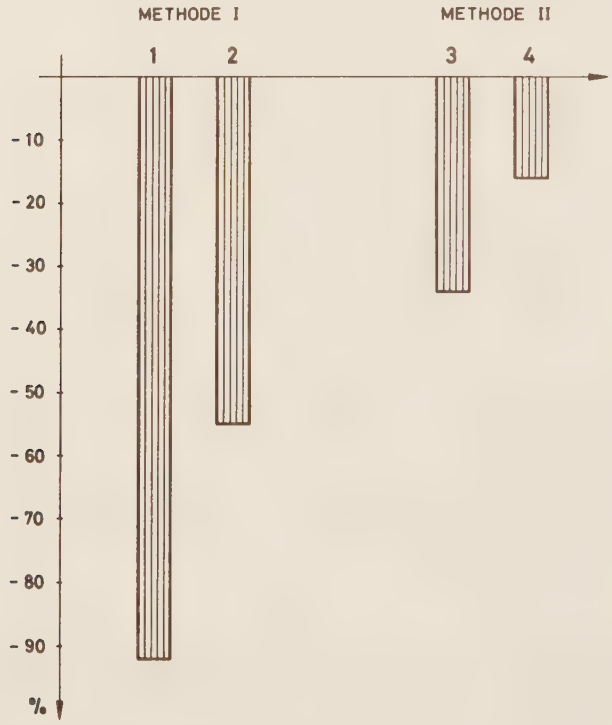


Abb. 19: Graphische Darstellung der Hemmwerte in % für die nahezu stöchiometrischen Konzentrationsverhältnisse von N.A. $1o^{-6}$ g/ml und ACh $1o^{-6}$ g/ml. Die Zahlenwerte wurden nach der Berechnungsweise D ermittelt.

(Fortführung der Abbildungslegende von Abb. 19)

Methode I:

1 : N.A. $1o^{-6}$ g/ml und ACh $1o^{-6}$ g/ml : 92,3 % Hemmung (D)
2 : N.A. $1o^{-6}$ g/ml und ACh $1o^{-6}$ g/ml : 55,o % Hemmung (D)
(unter hypoxischen Verhältnissen)

Methode II:

3 : N.A. $1o^{-6}$ g/ml und ACh $1o^{-6}$ g/ml : 34,o % Hemmung (D)
4 : N.A. $1o^{-6}$ g/ml und ACh $1o^{-6}$ g/ml : 17,o % Hemmung (D)
(nach primärer Barbituratinsuffizienz)

Streng genommen können nur die Versuche (1) und (3) miteinander verglichen werden, da bei (2) und (4) eine zweite Bedingung als Zusatzuntersuchung verändert wurde.

Bei der Versuchsanordnung der Methode I zeigt sich eine vergleichsweise sehr viel bessere Hemmung des N.A.-bedingten Zuwachses durch ACh als dies der Fall ist, wenn, - wie bei den "gehemmten" Kurven nach Methode II -, der Muskel vor der N.A.-Einwirkung mit ACh versetzt wird.

Sämtliche Hemmwerte unterscheiden sich in signifikanter Weise von den dazugehörigen N.A.-Werten ohne ACh. Es ist jedoch ganz offensichtlich, daß ACh eine größere Hemmwirkung entfaltet, wenn es im Anschluß an N.A. verabreicht wird, als wenn es der Zugabe von N.A. vorausgeht.

Dieser Unterschied in der Hemmwirkung könnte durch die positiv inotrope Eigenwirkung bedingt sein, deren ACh mit ziemlicher Sicherheit fähig ist. Es ist sehr wohl möglich, daß diese positive Inotropie erst bei ausreichender Einwirkungsdauer erkennbar wird. Möglicherweise ist dieser Mechanismus der Grund, weshalb die negative Inotropie von ACh bei der Versuchsanordnung I stärker ausgeprägt ist als bei der Versuchsreihe nach Methode II.

Orientierende Untersuchungen zur Wirkung von Glucagon und Theophyllin zeigten, daß beide Substanzen in ihrer Wirkung auf das Ventrikelmyokard den Katecholaminen entsprechen; ACh vermag eine durch Glucagon oder Theophyllin gesteigerte Kontraktilität weitgehend zu reduzieren. Auf quantitative Angaben wird jedoch auf Grund der geringen Versuchszahl (3 Versuche zu Glucagon, 3 Versuche zu Theophyllin) verzichtet.

C. Blockade der ACh-Wirkung durch Atropin

Auch die Papillarmuskeln dieser Versuchsserie waren durch Vorbehandlung mit Reserpin ausreichend N.A.-entspeichert, um eventuelle Effekte endogener Katecholamine auszuschliessen. Wenn sich die Kontraktionsamplitude nach Steigerung durch N.A. unter gleichzeitiger Einwirkung von ACh wieder senkt, so kann dieser Effekt bei exogener Gabe der Substanzen mit hinreichender Sicherheit auf ACh bezogen werden, wenn keine weiteren Veränderungen im Versuchsablauf vorgenommen werden.

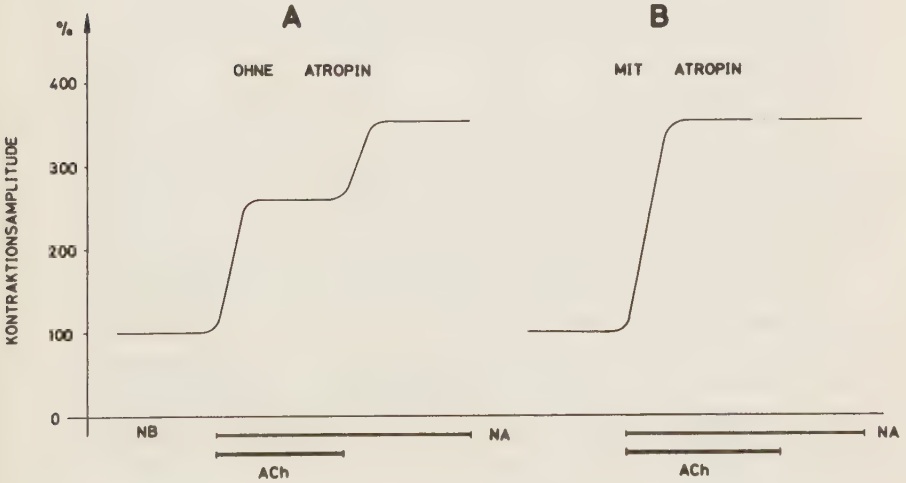


Abb. 2o: Schematische Darstellung der ACh-Blockade durch Atropin. Bei "A" wird ACh nicht durch Atropin blockiert, die Amplitude erreicht ihr Höchstmaß erst nach Absetzen von ACh. - Bei "B" kann ACh wegen Atropinblockade nicht zur Wirkung kommen, weshalb die Kontraktionsamplitude nach Absetzen von ACh nicht mehr gesteigert werden kann.

In ca. 2o Versuchen wurde der ACh-Effekt durch Atropin ($2 \times 1o^{-6}$ g/ml) blockiert und damit demonstriert, daß ACh seine katecholaminantagonistische Wirkung über muskarinische Rezeptoren entfaltet. Wenn sich bei einem Muskel (ohne Atropin) die Amplitude nach Gabe des Gemisches N.A./ACh (beide Substanzen in der Konzentration von $1o^{-6}$ g/ml) durch Wegnahme von ACh noch weiter steigern läßt, ist dies bei einem Muskel, der unter Atropineinfluß steht, nicht mehr möglich. Nach primärer Gabe von Atropin erreicht der Muskel bereits bei Anwendung des Gemisches N.A./ACh seine letztmögliche Amplitudenzunahme und läßt sich in seiner Kontraktionshöhe durch Absetzen von ACh nicht mehr steigern (Abb. 2o).

D. Änderung des muskulären Aktionspotentials unter dem Einfluß von ACh

Wurde die Muskelkammer mit barbiturathaltiger Tyrodelösung ($1o^{-4}$ g/ml Hexobarbital-Na) perfundiert, trat eine Verkürzung der Plateaudauer und des Aktionspotentials auf; ebenso deutlich war eine Verminderung des Overshoot unter diesen Bedingungen. Die gleichzeitig herabgesetzte Kraftentwicklung konnte durch N.A. ($5 \times 1o^{-7}$ g/ml) nahezu vollständig wieder auf ihr altes Niveau zurückgebracht werden. Obwohl N.A. offensichtlich die Plateauphase zu mehr positiven Werten innerhalb des gesamten Potentialbereichs verschob und eine Zunahme des Overshoot erkennbar war, blieb die Amplitude in ihrer Plateaudauer im Vergleich zu Kontrollbedingungen (Tyrodelösung ohne Barbitursäurezusatz) verkürzt.

Wenn die Zunahme der Kraftentwicklung und die teilweise Restitution des Aktionspotentials unter N.A. eine konstante Höhe erreicht hatten, wurde der Einfluß einer zusätzlich applizierten ACh-Dosis von $1o^{-6}$ g/ml untersucht. ACh reduzierte die Dauer des Aktionspotentials bei unterschiedlichen Amplituden sehr geringfügig (Abb. 21).

Diese Reduktion wurde begleitet von einer ausgeprägten Hemmung der primär durch N.A. gesteigerten Spannungsentwicklung. Eine Abnahme der Overshoot-Amplitude nach ACh von durchschnittlich 4 mV wurde in vielen Versuchen gesehen, obwohl sie statistisch nicht signifikant war.

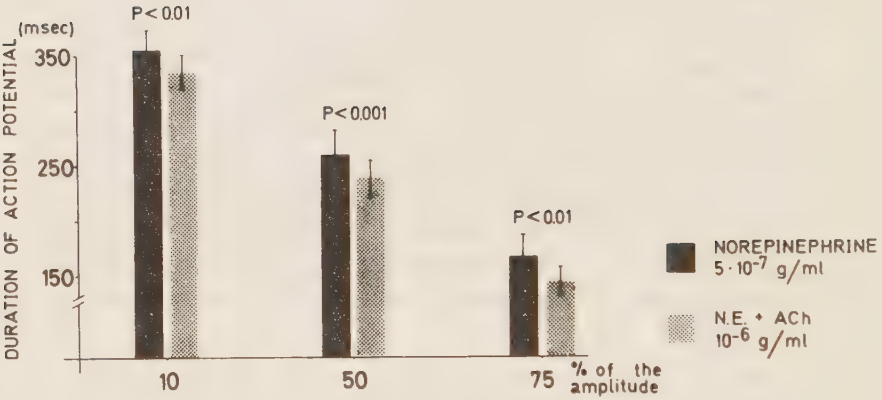


Abb. 21: Wirkung von exogenem Acetylcholin auf verschiedene Parameter des durch N.A. wieder verlängerten Aktionspotentials. Die gerasterten Säulen zeigen die Abnahme der Aktionspotentialdauer gegenüber den durch ACh unbeeinflußten, schwarz ausgezogenen Säulen.

IV. DISKUSSION

Es ging in dieser Arbeit um die phänomenologische Darstellung einer pharmakologischen Beeinflussung des reserpinentspeicherten Katzenpapillarmuskels durch exogen zugeführtes ACh. Das Wesen der negativen Inotropie durch ACh nach vorausgehender Amplitudensteigerung durch N.A. kann, weitgehend nur durch induktive Beweisführung geklärt werden. Die in der Physiologie verfügbaren Methoden können sachliche Beiträge zur Aufhellung der Zusammenhänge leisten; notwendig sind jedoch ergänzende, biochemisch orientierte Untersuchungen.

1. Zur Frage der Spezifität

Während früher eine durch ACh ausgelöste negative Inotropie am Ventrikelmyokard der Säugetiere rundweg bestritten wurde, mehrten sich in den letzten Jahren in manchen Arbeiten die Anzeichen dafür, daß ACh am Ventrikel eine dem Vorhof gleichsinnige, jedoch nicht isovalente Wirkung ausüben kann. Die Wirkung an der Kammer ist schwächer und wohl auch durch einen vom Vorhof unterschiedlichen Wirkungsmechanismus gekennzeichnet.

Für diese Annahme spricht die bekannte Tatsache, daß ACh am Vorhof auch ohne vorausgehende Amplitudensteigerung durch N.A. sehr ausgeprägt wirksam ist, während es an der Kammer nach alleiniger Applikation bei vollständiger Entspeicherung des N.A. durch Reserpin nur sehr geringfügig negativ (22) und positiv (12, 56) inotrope Amplitudenveränderungen verursachte. Ein weiteres Indiz für eine wenigstens abgewandelte Wirkweise mag die zu Beginn der Untersuchungen gemachte, vorläufig aber ungeklärte Beobachtung sein, daß ACh am Vorhof auch unter geringen Konzentrationen von EDTA (o,o26 mMol/l) funktionsfähig ist; an der Kammermuskulatur ist unter diesen Bedingungen keine ACh-Wirkung mehr nachzuweisen (vgl. S. 1o).

Des weiteren war die Amplitudenänderung nach ACh ambivalent und in der Abweichung von der Bezugsamplitude insignifikant verschieden, wenn eine primäre Steigerung der Kontraktionsamplitude durch Erhöhung des Ca^{++}-Gehaltes in der Nährlösung durch Strophanthin oder durch postextrasystolische Potenzierung erzielt wurde.

Daraus ist zu schließen, daß die negativ inotrope ACh-Wirkung mehr oder minder spezifisch an eine vorausgehende Kontraktilitätssteigerung durch Katecholamine (oder Theophyllin oder Glucagon) gebunden ist. Als wichtiges Ergebnis dieser Arbeit kann herausgestellt werden, daß die Effekte von ACh weitgehend gegen die katecholamin-bedingten Wirkungen gerichtet ist. Von anderen Autoren (4o, 43, 56) wird über antagonistische Effekte von ACh gegenüber einer katecholamin-, theophyllin- und glucagon-induzierten Steigerung von AMP-Spiegel, Cyclase- und Phosphorylaseaktivität sowie Glykogenolyserate berichtet. Eigene orientierende Untersuchungen bestätigen diesen Sachverhalt (S. 65). Die genannten Befunde sprechen dafür, daß ACh - abgesehen von antiadrenergen Effekten im Sinne von Löffelholz und Muscholl (34, 35) - eine direkte Wirkung auf das Ventrikelmyokard ausübt, wobei ursächlich an eine Beeinflussung von Synthese und Abbau des cyclischen AMP zu denken ist (43, 52).

2. Zur Rezeptorentheorie

Die Rezeptorentheorie gilt als eines der fruchtbarsten Modelle in der Pharmakologie. Sie beruht auf der hypothetisch wohl begründbaren Annahme, daß eine pharmakologisch aktive Substanz an einer durch ihre chemische Struktur definierten Stelle der Zellwand ihre Wirkung entfaltet. Wirksame Substanz und Rezeptorstelle müssen sterische und physikochemische Eigenschaften besitzen, die zueinander passen und eine chemische Interaktion ermöglichen.

Da für die gegensätzliche Wirkung von ACh und Atropin auf den parasympathischen Teil des vegetativen Nervensystems diese Rezeptorentheorie sehr gut anwendbar ist, liegt die Frage nahe, in welcher Weise die Interaktion von ACh und N.A. über Zellwandstrukturen stattfindet. Es ist zu untersuchen, ob es sich um eine gegenseitige Vertretbarkeit beider Substanzen am selben Rezeptor, d.h. um eine sogenannte kompetitive Hemmung handelt (wie im Falle der ACh-Hemmung durch Atropin), oder ob ein anderer Modus der Hemmung vorliegt, der die unterschiedliche Wirkung erklären könnte.

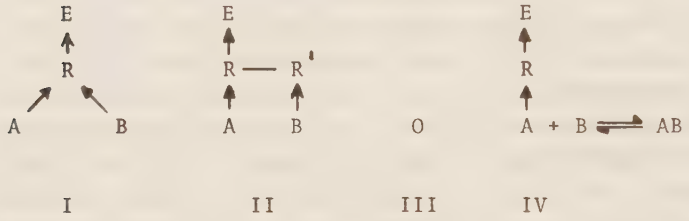
Um eine Substanz im Sinne der Rezeptorentheorie näher charakterisieren zu können, definierte man die Affinität und die "intrinsic activity" eines solchen Moleküls. Die Affinität ist die Maßzahl für die Wahrscheinlichkeit und das Ausmaß, mit der sich ein Molekül mit dem zugehörigen Rezeptor verbindet, so daß eine Interaktion möglich wird. Die "intrinsic activity" ist ein Maß für die Wirkung, die nach einer Verbindung des wirksamen Moleküls mit dem Rezeptor zustande kommt. Bildlich gesprochen stellt die Affinität den Schlüssel dar, der ins Schlüsselloch (Rezeptor) paßt, und die "intrinsic activity" gibt an, ob dieser Schlüssel auch umdrehen, d.h. wirken kann.

Ariens (3) beschreibt in seiner Monographie "Molecular Pharmacology" im wesentlichen vier Arten von Konkurrenzhemmung an einem Rezeptor, die an Hand unterschiedlich verlaufender Dosiswirkungskurven differenziert werden können. Die Gleichung, nach der diese theoretischen Kurven erreicht werden, lautet:

$$\frac{E_{AB}}{E_{max}} = \frac{\alpha\ (RA)}{r} + \frac{\beta\ (RB)}{r}$$

E: Effekt
R: Rezeptor
A: Agonist
B: Antagonist
r: konst.
α: intrinsic activity A
β: intrinsic activity B

Folgende vier Möglichkeiten einer Konkurrenzhemmung am Rezeptor sollen kurz dargestellt werden



a) Kompetitiver Antagonismus

Beim kompetitiven Antagonismus sind die Dosiswirkungskurven bei zunehmender Konzentration des Antagonisten parallel nach rechts verschoben (Abb. 22).

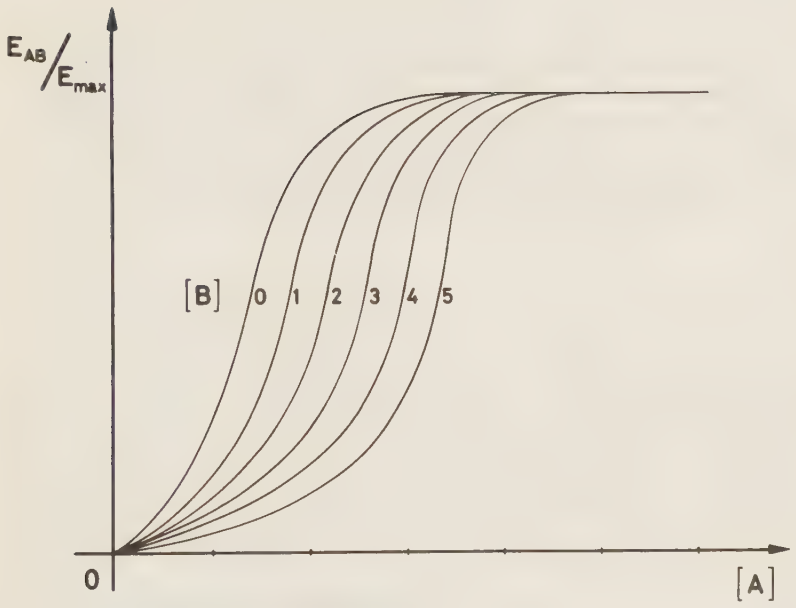


Abb. 22: Kompetitiver Antagonismus. Halblogarithmisch aufgetragene theoretische Dosiswirkungskurven für 4 verschiedene Konzentrationen des Antagonisten (1, 2, 3, 4). Bei der mit "O" bezeichneten Kurve wirkt nur der Agonist. Bei steigender Dosis des Antagonisten (1 - 4) verschieben sich die Kurvenzüge parallel nach rechts. (Nach Ariens, 1964).

Der Agonist besitzt eine hohe Affinität und eine hohe "intrinsic activity", während der Antagonist nur eine hohe Affinität, aber keine oder nur eine sehr geringe "intrinsic activity" aufweist. Die Rezeptorstelle wird also blockiert, wie das am Beispiel von ACh und Atropin leicht zu zeigen ist. (Der antagonistische Schlüssel paßt zwar ins Schloß, kann aber nicht umdrehen).

b) Nicht kompetitiver Antagonismus

Hierbei greifen Agonist und Antagonist über verschiedene Rezeptoren an. Die Kurven sind nicht parallel in der Horizontalen verschoben, sondern in der Vertikalen. Bei steigender Konzentration des Antagonisten wird der antagonistische Effekt dosisabhängig größer (Abb. 23).

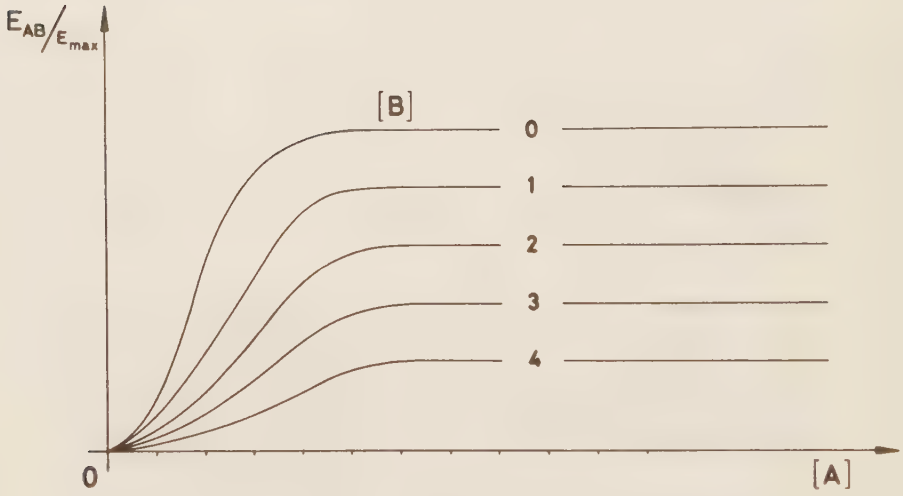


Abb. 23: Nicht kompetitiver Antagonismus. Halblogarithmisch aufgetragene theoretische Dosiswirkungskurven für 4 verschiedene Konzentrationen des Antagonisten (1, 2, 3, 4). Bei der mit "O" bezeichneten Kurve wirkt nur der Agonist. Der antagonistische Effekt nimmt bei steigender Konzentration des Antagonisten dosisabhängig zu; es tritt eine Parallelverschiebung der Dosiswirkungskurven in der Vertikalen ein. (Nach Ariens, 1964).

Die Effektminderung nach Gabe des Antagonisten ist nur von der Konzentration des Antagonisten abhängig, nicht von der Konzentration des Agonisten. Daß in unserem Falle die irreversible Blockade eines Rezeptors ausgeschlossen werden kann, geht daraus hervor, daß die Substanzen immer wieder vollständig auswaschbar waren. Für den Fall einer irreversiblen Blockade wären diese Kurvenbilder nicht mehr gültig.

c) Unkompetitiver Antagonismus

Diese Möglichkeit ist nur von theoretischem Interesse und vom rechnerischen Standpunkt aus zu fordern, da in der Natur bisher keine Beispiele dafür bekannt geworden sind. In diesem Fall soll der Antagonist nur wirken, wenn der Agonist A seine Rezeptoren besetzt hält. Theoretisch ist eine Differenzierung von nicht kompetitivem und unkompetitivem Antagonismus möglich.

d) Chemischer Antagonismus

Diese Kurvenbilder sind denen einer kompetitiven Hemmung sehr ähnlich und erlauben vom graphischen Bild her keine Unterscheidung (Abb. 22). Der Beweis eines chemischen Antagonismus müßte auf chemischem oder pharmakologischem Wege erbracht werden.

Im Falle eines chemischen Antagonismus bestimmt die Menge des vorhandenen Antagonisten, wieviel freier Agonist vorhanden sein kann, um die Rezeptoren zu besetzen und einen entsprechenden Effekt hervorzurufen.

Wenn man die auf Grund der Experimente vorgelegten Dosiswirkungskurven (III, B, 2, a; Abb. 17 und 18) auf die Darstellungen von Ariens (3) anwendet, so ist ein Kurvenverlauf nach Schema Abb. 23 nur wahrscheinlich zu machen. Eine einhellige Aussage wird ermöglicht, wenn bei N.A. eine Maximaldosis zu ermitteln ist. Das gelang bei den hier

berücksichtigten Versuchen nur an einer nicht ausreichenden Zahl von Muskeln, weil der Muskel bei N.A.-Dosen über 10^{-6} g/ml in den meisten Fällen mit Spontanaktionen antwortete, ohne stufenweise und dosisgerecht seine Kontraktilität zu steigern. In Weiterführung der vorgelegten Untersuchungen wurde von unserer Arbeitsgruppe inzwischen gezeigt, daß die hier niedergelegte Deutung der nach Abb. 23 vorgetragenen Interpretation entspricht (Schwegler et al. 1973, persönliche Mitteilung).

Der Kurvenvergleich entspricht am ehesten einem nicht kompetitiven Mechanismus, da mit höherer Konzentration des Antagonisten die Kurven nicht nach rechts, sondern zur Abszisse hin parallel verschoben sind. Eine rein chemische Interaktion im Sinne des Massenwirkungsgesetzes kommt aus denselben Gründen, die gegen einen kompetitiven Mechanismus sprechen, nicht in Frage. Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich um eine nicht kompetitive Hemmung des N.A. durch ACh, wobei die einzelnen Schritte nach Besetzung des Rezeptors bzw. der Rezeptoren noch der weiteren Klärung bedürfen. Wie oben dargestellt, könnte ACh nach Besetzung der Rezeptoren seine Wirkung über eine Beeinflussung des Adenylcyclase-Systems entfalten.

3. Abhängigkeit der ACh-Effekte vom kontraktilen Zustand des Präparates unter Kontrollbedingungen

Durch Einführen einer "Utilisationsinsuffizienz" mit Hexobarbital-Na in der Konzentration von 10^{-4} g/ml sollte untersucht werden, ob die ACh-Wirkung entsprechend der bei einem solchermaßen geschwächten Muskel gesteigerten N.A.-Wirkung ebenfalls zunimmt.

Unter Insuffizienzbedingungen ist die relative ACh-bedingte Kontraktilitätsminderung entsprechend dem prozentualen N.A.-bedingten Zuwachs größer als unter Normalbedingungen (Abb.18 und 19). Berechnet man jedoch nach Methode D und setzt den

N.A.-bedingten Zuwachs = 1oo %, so ist die auf diese Weise ermittelte absolute Amplitudensenkung durch ACh nie größer, sondern um 2o - 3o % geringer als bei primär nicht verminderter Kontraktilität.

4. Untersuchung der antiadrenergen Effekte von ACh mit verschiedenen Versuchsanordnungen

Unterliegt der Muskel keiner Utilisationsinsuffizienz, und wird er nicht primär mit ACh inkubiert (Methode I), so kann ein durch N.A. bedingter Zuwachs der Kontraktilität durch anschließende Zugabe von ACh um 79 % rückgängig gemacht werden. Grundsätzlich gleich verhält sich der Muskel, wenn ACh vor dem Zusatz von N.A. appliziert wird (Methode II), doch beträgt das Ausmaß der Amplitudensenkung in diesem Fall nur 4o - 5o %; dies ist vermutlich auf die positiv inotrope Eigenwirkung von ACh zurückzuführen.

Die positive Inotropie wurde in Übereinstimmung mit anderen Autoren (2, 7, 8, 11, 3o) beobachtet, ihre Ursache jedoch nicht weiter untersucht. Der positiv inotrope Effekt trat nur bisweilen und dann auch nur in geringem Ausmaß zutage. Immerhin kann durch dieses Phänomen das unterschiedliche Ergebnis der Methoden I und II erklärt werden. Möglicherweise spielt nämlich neben der reinen ACh-Konzentration auch die Einwirkungsdauer eine Rolle. Bei Methode II waren die amplitudensenkenden Effekte von ACh geringer, was dadurch bedingt sein kann, daß bei Methode II die Zeit der ACh-Wirkung auf den Muskel bedeutend länger war als bei Methode I. Nach Dempsey und Cooper (11) soll die positiv inotrope Wirkung von ACh erst auftreten, wenn die Grenzkonzentration von $1o^{-5}$ g/ml aufwärts überschritten wird. Durch eine Inkubation mit ACh (Methode II) wird wahrscheinlich im Muskel diese kritische Konzentration überschritten.

Wenn ACh über die nikotinartigen Rezeptoren eine N.A.-Freisetzung fördern kann (33), so beobachteten andererseits Löffelholz und Muscholl (34, 35) eine durch ACh verminderte Freisetzung von N.A. im Perfusat des isolierten Kaninchenherzens. Diese Hemmung läßt sich durch Atropin blockieren (muskarinartiger Mechanismus), ist dosisabhängig und kann durch ACh-Dosen, die höher als $1o^{-6}$ g/ml liegen, nicht mehr weiter gesteigert werden. In diesen Versuchen handelt es sich aber vermutlich um Katecholamine, die in intramuralen Nerven vorliegen. Da unsere Tiere mit Reserpin vorbehandelt waren und sich die negativ inotropen Effekte durch das exogen zugegebene Gemisch von N.A. und ACh darstellen liessen, kann die Theorie von Löffelholz und Muscholl auf unsere Befunde nicht oder nur in sehr begrenztem Umfang Anwendung finden.

5. Einfluß von ACh auf das Aktionspotential

Die Ergebnisse der Untersuchung von ACh-bedingten Aktionspotentialänderungen zeigen eine geringfügige Verkürzung der Gesamtdauer und Plateaudauer des Aktionspotentials unter dem Einfluß von exogenem ACh. Auch diese Befunde wurden an katecholaminentspeicherten Papillarmuskeln gewonnen. Die Plateaudauer wurde primär durch Barbiturate ($1o^{-4}$ g/ml Hexobarbital-Na) verkürzt und durch Zufuhr von exogenem N.A. wieder verlängert. Eine Abnahme der Overshoot-Amplitude um durchschnittlich 4 mV war häufig zu beobachten, jedoch rechnerisch nicht signifikant. Diese Veränderungen des Aktionspotentials wurden praktisch immer gesehen, wenn eine ausgeprägte Hemmung der mechanischen Amplitude durch ACh vorhanden war.

Da jedoch die Verkürzung des Aktionspotentials durch ACh angesichts der möglichen Hemmung der mechanischen Amplitude gering erscheint, können weitere Angriffspunkte für ACh dis-

kutiert werden. In derselben Weise, in der N.A. die Zellmembranpermeabilität für bestimmte Ionen erhöht, sowie deren intrazelluläre Verteilung beeinflussen kann (47), könnte auch für die Wirkung von ACh ein zusätzlich an intrazelluläre Membranen, den intrazellulären Stoffwechsel direkt beeinflussender Vorgang beteiligt sein. Die Tatsache, daß ACh formal gesehen auf das Aktionspotential nur einen sehr geringen Einfluß ausübt, spricht nicht dagegen, daß der Angriffspunkt im wesentlichen membrangebunden ist.

Drei eigene orientierende Versuche mit Glucagon zeigten, daß auch eine durch Glucagon gesteigerte positive Inotropie durch ACh teilweise wieder gesenkt werden kann. Sutherland et al. (53) vertraten die Ansicht, daß N.A. eine positive Inotropie über die Beeinflussung des Membran-Adenyl-Cyclase-Systems bewirken kann. Daß ACh gegenüber Glucagon (39) und Theophyllin (4o) hemmend wirkt, zeigten Lucchesi und Meester et al. Ebenso wird von weiteren Autoren (6, 43, 56) berichtet, daß ACh eine Hemmung der Phosphorylaseaktivität und der Glykogenolyse zur Folge haben kann. Morel (42) wies nach, daß Theophyllin und andere Methylxanthine eine Phosphodiesterase hemmen, die cyclisches AMP abbaut. Es wäre daher denkbar, daß ACh seine negativ inotrope Wirkung auf diesem biochemischen Wege ausübt. Doch muß auch hier einschränkend eine Arbeit von Klaus (25) erwähnt werden, nach der die positive Inotropie und eine gesteigerte 3'5'-AMP-Konzentration bzw. Phosphodiesteraseaktivität zwei voneinander getrennt zu betrachtende, unabhängige Phänomene sind. La Raia und Sonnenblick (44) dagegen sahen unter Carbamylcholin eine nur insignifikante Abnahme des gebildeten cyclischen AMP. Die von Blukoo-Allotey et al. (6) beschriebene Hemmung der gesteigerten Glykogenolyse durch ACh könnte zumindest teilweise in Beziehung stehen zu der hier nachgewiesenen Hemmung einer adrenergisch gesteigerten Kontraktionskraft, da beide Effekte durch Atropin hemmbar sind.

Eine engere Korrelation zwischen der Aktionspotentialverkürzung nach ACh und der Abnahme der isometrischen Spannungsentwicklung wurde bei einer Aktionspotentialdauer unter 250 msec beobachtet. Eine Verkürzung des Aktionspotentials wurde auch in Versuchen mit endogenem ACh durch konstante Reizung des Präparates mit 1 - 1,5 Hz erzielt. Bei Zugabe von exogenem N.A. kam es in der Regel zu einer Zunahme von Höhe und Dauer der 2. Phase der Depolarisation. Ein durch N.A. geförderter Ca^{++}-Einstrom während der Plateauphase und die dadurch bewirkte Steigerung der intrazellulären freien Ca-Ionenkonzentration sind als Ursache der gesteigerten Kontraktionskraft anzusehen. Unter diesen Bedingungen entspricht die Verlängerung der Plateaudauer durch Katecholamine der positiven Inotropie.

Umgekehrt könnte ACh durch eine vorzeitige Begrenzung des Plateaus zu einer Abnahme der intrazellulären freien Ca-Ionen führen. Dieser Effekt scheint nach den obigen Ausführungen nicht durch eine direkte Herabsetzung der Zellmembranpermeabilität für Ca-Ionen verursacht zu sein, sondern evtl. durch eine Beschleunigung der die Repolarisation einleitenden Auswärtsströme. Obwohl die rasche Mobilisierung des Ca-Einwärtsstromes selbst Auswärtsströme verschiedener Art und damit die Repolarisation aktiviert - abzulesen an einer Verkürzung der AP-Dauer bei erhöhter Ca-Aussenkonzentration - besteht eine zusätzliche N.A.-Einwirkung darin, durch Abnahme der K-Leitfähigkeit in der Diastole einer Verkürzung des Aktionspotentials entgegenzuwirken (9). Im Gegensatz zu dieser N.A.-Wirkung könnte ACh dann, wenn eine nachweisbare Beeinflussung von Aktionspotential und Mechanogramm durch Katecholamine stattfindet, über eine Abnahme des Membranwiderstandes den passiven K^{+}-Efflux fördern, was nach den Ergebnissen von Trautwein und Dudel (53) für die Wirkung von ACh am Warmblütervorhof zutrifft.

Obwohl bisher keine Beweise für diese Hypothese vorliegen, würde die Zunahme der K-Leitfähigkeit unter ACh sowohl die beschriebene Verkürzung des Aktionspotentials erklären, als auch die im Sinne einer Verschiebung zum K-Gleichgewichtspotential hin in bestimmten Fällen auftretende Schrittmacheraktivität beseitigen können. So wurde die N.A.-induzierte Spontanaktivität, die möglicherweise Folge einer schnelleren Abnahme der Kaliumleitfähigkeit ist, während der Diastole regelmäßig durch ACh beseitigt.

Ein eindeutiger Wirkungsmechanismus kann demnach weder für die ACh-bedingten Änderungen des Mechanogramms noch für die Veränderungen des Aktionspotentials aufgezeigt werden. Offenbar handelt es sich bei der ACh-Wirkung auf die Kammermuskulatur des Warmblüters um ein vielschichtiges Problem, dessen Aufklärung erst am Anfang steht. Dies spricht auch Levy(28) in einer kürzlich erschienen Arbeit aus.

Sicher ist trotz gewichtiger anderslautender Meinungen, daß ACh an der Ventrikelmuskulatur eine negativ inotrope Wirkung entfalten kann. Diese Wirkung wird über muskarinische Rezeptoren oder Membranlokalisationen vermittelt, da der Effekt durch Atropin unterdrückt werden kann.

Weil die Präparate N.A.-entspeichert waren, postulieren wir neben antiadrenergen Effekten im Sinne von Löffelholz und Muscholl (34, 35) einen myokardialen Angriffspunkt durch eine Interaktion von ACh mit Sympathomimetika am Kammermyokard des Warmblüters. In welcher Weise die Änderung der Kontraktilität einem Einfluß des Aktionspotentials oder des Adenylcyclasesystems, oder beiden zusammen, unterliegt, ist unklar und muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In nahezu 1oo Einzelversuchen wird an isolierten Katzenpapillarmuskeln der katecholaminantagonistische Effekt von ACh auf das Ventrikelmyokard eines Säugetiers untersucht.

Bei den Untersuchungen zur Spezifität des Effekts zeigt sich, daß ACh weitgehend spezifisch Kontraktilitätssteigerungen rückgängig macht, die primär durch Katecholamine, Glucagon oder Theophyllin erreicht worden sind. Auf eine Zunahme der Kontraktionsamplitude durch Ca-Ionen, Strophanthin oder postextrasystolische Potenzierung tritt keine adäquate Antwort nach ACh-Applikation ein.

Unter Normalbedingungen macht ACh eine N.A.-induzierte Steigerung der Kontraktilität weitgehend rückgängig (ACh in den Konzentrationen von $1o^{-6}$ und $1o^{-5}$ g/ml, verwendete N.A.-Konzentrationen: Bereich von $1o^{-7}$ bis $1o^{-6}$ g/ml). Unterliegt der Muskel einer primären Utilisationsinsuffizienz, so wird die Amplitudenminderung durch ACh zwar relativ größer entsprechend dem größeren Zuwachs durch N.A.; bezogen auf den katecholaminbedingten Zuwachs ist aber das Ausmaß der Amplitudensenkung unter ACh beim voll funktionstüchtigen Muskel am größten. Unter Atropineinwirkung tritt die beschriebene Amplitudensenkung nicht mehr auf. Den Katecholaminen gleichsinnig wirkten Glucagon und Theophyllin, jedoch möchten wir auf Grund der geringen Versuchszahl auf eindeutige Aussagen verzichten.

Ergänzende elektrophysiologische Untersuchungen durch intrazelluläre Mikroelektroden ergaben, daß ACh die Dauer des AP sehr geringfügig reduzieren kann, sofern eine primär verkürzte Plateaudauer zuvor durch Katecholamine verlängert wurde. Zudem wurde in vielen Versuchen eine durchschnittliche Abnahme der Overshootamplitude von 4 mV gesehen.

Ausgehend von der Rezeptorentheorie und der spezifisch antagonistischen Wirkung von ACh gegenüber Katecholaminen, Glucagon und Theophyllin wird eine direkte Wirkung von ACh auf die Zellmembran des Ventrikelmyokards diskutiert. ACh scheint seine Wirkung auf die Zelle über das zyklische 3'-5'-Monophosphat zu entfalten; Aktivierung oder Inaktivierung des Adenylzyklasesystems wird wahrscheinlich von ACh beeinflußt.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Antoni, H.:
Elektrophysiologie peripherer vegetativer Regulationen am Beispiel des Herzmuskels und der glatten Muskulatur
In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. VIII/2, S. 18 - 95, Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966

2. Antoni, H., R. Jacob und R. Kaufmann:
Mechanische Reaktionen des Frosch- und Säugetiermyokards bei Veränderung der Aktionspotentialdauer durch konstante Gleichstromimpulse
Pflügers Arch. ges. Physiol. 3o6, 33-57 (1969)

3. Ariens, E.J.:
The Mode of Action of Biologically Active Compounds
In: Molecular Pharmacology. Vol. I, Academic Press, New York and London, 1964

4. Blesa, M.I. and R. Gross:
Cholinergic mechanisms on the heart and coronary circulation
Brit. J. Pharmacol. 38, 93-1o5 (197o)

5. Blinks, J.R.:
Field stimulation as a mean of effecting the graded release of autonomic transmitters in isolated heart muscle
J. Pharmacol. exp. Therap. 151, 221-235 (1966)

6. Blukoo-Allotey, J.A., N.H. Vincent and S. Ellis:
Interactions of acetylcholine and epinephrine on contractility, glycogen and phosphorylase acitivity of isolated mammalian heart
J. Pharmacol. Exp. Therap. 17o, 27-36 (1969)

7. Blumenthal, M.R., H.-H. Wang, S. Markee and S.C.Wang:
Effects of acetylcholine on the heart
Am. J. Physiol. 214, 128o-1287 (1968)

8. Buccino, R.A., E.H. Sonnenblick, T. Cooper and E. Braunwald:

Direct positive inotropic effect of acetylcholine on myocardium

Circ. Res. 19, 1097-1108 (1966)

9. Carmeliet E. and J. Vereecke:

Adrenaline and the plateau phase of the cardiac action potential. Importance of Ca^{++}, Na^{+} and K^{+}- Conductance

Pfluegers Arch. ges. Physiol. 313, 300-315 (1969)

10. Dagget, W.M., G.C. Nugent, P.W. Carr, P.C. Powers and Y. Harada:

Influence of vagal stimulation on ventricular contractility, O_2-consumption and coronary flow

Amer. J. Physiol. 212, 8-18 (1967)

11. Dempsey, P.J. and T. Cooper:

Ventricular cholinergic receptor systems: Interaction with adrenergic systems

J. Pharmacol. exp. Ther. 167, 282-290 (1969)

12. Friedman, W.F., R.A. Buccino, E.H. Sonnenblick and E. Braunwald:

Effects of frequency of contraction and ionic environment on the responses of heart muscle to acetylcholine

Circ. Res. 21, 573-582 (1967)

13. De-Geest, H., M.N. Levy and H. Zieske:

Negative inotropic effect of the vagus upon the canine ventricle

Science 144, 1223-1225 (1964)

14. Häggendal, J. and G. Johnson:

The stability of N.A. in Infusion Solutions

Acta Pharmacol. et toxicol. 25, 461-464 (1967)

15. Haeusler, G., H. Thoenen, W. Haefely and A. Huerlimann:

Electrical events in cardiac adrenergic nerves and noradrenaline release from the heart induced by acetylcholine and KCl.
Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. exp. Pathol. 261, 389-411 (1968)

16. Hoffmann, F., E.J. Hoffmann, S. Middleton and J. Talesnik:
Stimulating effect of acetylcholine on the mammalian heart and the liberation of an epinephrine-like substance by the isolated heart
Am. J. Physiol. 144, 189-198 (1945)

17. Hoffmann, B.F. and E.E. Suckling:
Cardiac cellular potentials: Effect of vagal stimulation and acetylcholine
Amer. J. Physiol. 173, 312-32o (1953)

18. Hollenberg, M., S. Carriere and A.C. Barger:
Biphasic action of acetylcholine on ventricular myocardium
Circ. Res. 16, 527-536 (1965)

19. Jacob, R., H.-F. Kienzle, G. Sieber und E. Wille:
Catecholamine antagonism of exogenous and endogenous acetylcholine in the mammalian ventricular myocardium
Proceedings of the international Union of Physiological sciences - Vol. IX, XXV international congress Munich No. 814, 1971

20. Jacob, R. und G. Kissling:
Hämodynamische und muskelphysiologische Aspekte der postextrasystolischen Potenzierung
Ärztliche Forschung 23, 325-334 (1969)

21. Jacob, R., D.T. Miller und J.P. Gilmore:
Kontraktionskraft und Aktionspotential des Säuger-Ventrikelmyokards unter dem Einfluß geringer Acetylcholin-Konzentrationen
Pflüg. Arch. 316, R 14 (197o)

22. Jacob, R., D.T. Miller und J.P. Gilmore:
Antiadrenerge Effekte von ACh und ihre Bedeutung für Kontraktionskraft und Aktionspotential des Säugerventrikelmyokards
Ärztliche Forschung 25, 141-153 (1971)

23. Keidel, W.D.:
Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie, 1. Aufl. S. 78, Stuttgart: Thieme 1967

24. Kissling, G., H. Nguyen-Duong, H.-F. Kienzle and G. Sieber:
Negative inotropic effects of acetylcholine released from intramural parasympathetic nerve endings of the mammalian heart (abstr.)
Pfluegers Arch. ges. Physiol. 319, R 18 (197o)

25. Klaus, W., R. Krebs und N. Seitz:
Über die Dissoziation von Funktion und Stoffwechsel des isolierten Meerschweinchenherzens unter dem Einfluß von Phosphodiesterase-Hemmstoffen
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol. 267, 99-113 (197o)

26. Lâncos, A.: Über die Wirkung des Vagusstoffes und Acetylcholins auf die isolierte Kammer des Froschherzens
Pflügers Arch. ges. Physiol. 225, 71o-72o (193o)

27. Lee, W.C. and F.E. Shideman:
Mechanism of the positive inotropic response to certain ganglionic stimulants
J. Pharmacol. exp. Ther. 126, 239-249 (1959)

28. Levy, M.N.: Sympathetic-Parasympathetic Interactions in the heart
Circ. Res. 29, 437-445 (1971)

29. Levy, M.N., M. Ng, P. Martin and H. Zieske:
Sympathetic and parasympathetic interactions upon the left ventricle of the dog
Circ. Res. 19, 5-1o (1966)

3O. Levy, M.N. and H. Zieske:
Effect of enhanced contractility on the left ventricular response to vagus nerve stimulation in dogs
Circ. Res. 24, 3o3-311 (1969)

31. Liebermann, M. and Paes de Carvalho, A.:
Effect of locally applied acetylcholine on the embryonic cardiac action potential
Experientia 23, 539-54o (1967)

32. Lissak, K. und J. Martin:

Beiträge zum Wirkungsmechanismus des Atropins

Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol. 196, 558-565 (194o)

33. Löffelholz, K.:

Untersuchungen über die Noradrenalinfreisetzung durch ACh am perfundierten Kaninchenherzen

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharm. exp. Path. 258, 1o8-122 (1967)

34. Löffelholz, K. and E. Muscholl:

Muscarinic inhibition of the noradrenaline release evoked by postganglionic sympathetic nerve stimulation

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. exp. Pathol. 265, 1-15 (1969)

35. Löffelholz, K. and E. Muscholl:

Inhibition by parasympathetic nerve stimulation of the release of the adrenergic transmitter

Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 267, 181-184 (197o)

36. Loewi, O.: Über die humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung

I. Mittlg. Pflüg. Arch. ges. Physiol. 189, 239-242 (1921)

37. Loewi, O. und E. Navratil:

Über die humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung

X. Mittlg. Über das Schicksal des Vagusstoffes

Pflüg. Arch. ges. Physiol. 214, 678-688 (1926)

38. Lu, H., G. Lange and Ch. Brooks:

Comparative studies of electrical and mechanical alteration in heart cells

J. Electrocard 1, 7-17 (1968)

39. Lucchesi, B.R.:

Cardiac actions of glucagon.

Circ. Res. 22, 777-787 (1968)

4o. Meester, W.D. and H.F. Hardman:

Blockade of the positive inotropic actions of epinephrine and theophylline by acetylcholine

J. Pharmacol. Exp. Ther. 158, 241-247 (1967)

41. Middleton, S., C. Oberti, R. Prager and H.H. Middleton:

Stimulating effect of acetylcholine on the papillary myocardium

Acta Physiol. Lat. Am. 6, 82-89 (1956)

42. Morel, F.: Zyklisches Adenosinmonophosphat als intrazellulärer Vermittler vieler Hormonwirkungen

Triangel 9, 119-126 (197o)

43. Murad, F., Y.-M. Chi, T.W. Rall and E.W. Sutherland:

Adenyl-Cyclase: III. Effect of catecholamines and choline esters on the formation of adenosine 3'5'-phosphate by preparations from cardiac muscle and liver

J. Biol. Chem. 237, 1233-1238 (1962)

44. LaRaia, P.J. and E.H. Sonnenblick:

Autonomic control of cardiac C-AMP

Circ. Res. 28, 377-384 (1971)

45. Rein-Schneider:

Physiologie des Menschen, 15. Aufl. S. 68-7o, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1964

46. Richardson, J.A. and E.F. Woods:

Release of noreponephrine from the isolated heart

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1oo, 149-151 (1959)

47. Sano, T., F. Suzuki and S. Sato:

Mechanism of inotropic action of catecholamines and quabain in cardiac muscle in relation to changes of action potential

Jap. Heart. J. May. 269-289 (197o)

48. Sarnoff, S.J., S.K. Brockmann, J.P. Gilmore, R.J. Linden and J.H. Mitchell:

Regulation of ventricular contraction: Influence of cardiac sympathetic and vagal nerve stimulation on atrial and ventricular dynamics

Circ. Res. 8, 11o8-1122 (196o)

49. Schmidt, R.F.:

Über die Acetylcholin-Empfindlichkeit verschiedener Herzabschnitte

Arch. exp. Path. Pharmacol. 233, 531-54o (1958)

5O. Scholz, H. und H. Reuter:

Über die Beziehung zwischen Membranpotential und Kontraktion am Herzen unter dem Einfluß von Adrenalin

Arch. Exper. Path. u. Pharmakol. 26o, 196-197 (1968)

51. Sieber, G., G. Kissling, D.T. Miller und R. Jacob:

Indirekter Nachweis parasympathischer Nervenfasern im Ventrikelmyokard des Menschen

Nauny-Schmiedebergs Arch. PHarmacol. 276, 211-221 (1973)

52. Sutherland, E.W., G.A. Robinson and R.W. Butcher:

Some aspects of the biological role of adenosine 3'5'-monophosphate (cyclic AMP)

Circulation 37, 279-3o6 (1968)

53. Sutherland, E.W., I. Ye and R.W. Butcher:

The action of epinephrine and the role of the adenyl-cyclase-system in hormone action

Recent Progr. Hormone Res. 21, 623-642 (1965)

54. Trautwein, W. und J. Dudel:

Zum Mechanismus der Membranwirkung des Acetylcholin an der Herzmuskelfaser

Pfluegers Arch. ges. Physiol. 266, 324-334 (1958)

55. Trautwein, W. und R.F. Schmidt:

Zur Membranwirkung des Adrenalins an der Herzmuskelfaser

Pflüg. Arch. ges. Physiol. 271, 715-726 (196o)

56. Vincent, N.H. and S. Ellis:

Inhibitory Effect of acetylcholine on glycogenolysis in the isolated guinea pig heart

J. Pharmacol. Exp. Ther. 139, 6o-68 (1963)

Herr Prof. Dr. R. Jacob stand mir bei allen Problemen der gedanklichen und experimentellen Bearbeitung des Themas sehr freundlich mit seiner großen Erfahrung zur Seite. Für die wertvollen Anregungen und die stetige Förderung der Arbeit bis zu ihrer Fertigstellung danke ich ihm sehr herzlich.

Herrn Dr. E. Wille danke ich sehr für die gute und anregende Zusammenarbeit bei der Durchführung der elektrophysiologischen Untersuchungen.

Lebenslauf

Am 14. Mai 1946 wurde ich, Hans-Friedrich Kienzle, als Sohn von Gerhard Kienzle, Kaufmann, und seiner Ehefrau Käthe, geb. Linsenmayer, in Gschwend (Ostalbkreis) geboren. Die Vor- und Grundschulzeit verbrachte ich zusammen mit meinen 4 jüngeren Geschwistern in Gschwend.

Nach der Aufnahmeprüfung 1957 besuchte ich 5 Jahre lang in Gaildorf das Progymnasium. 1961 legte ich das Landexamen der ev. Landeskirche in Württemberg ab, um nach weiteren 4 Jahren Unterricht in den Seminaren Schöntal/Jagst und Urach/Württ. mit der humanistischen Reifeprüfung im Februar 1966 die Schulzeit zu beenden.

Im Mai 1966 nahm ich in Tübingen das Studium der Medizin auf und legte 1967 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, im September 1968 die ärztliche Vorprüfung ab. Im 2. und 3. klinischen Semester studierte ich an der Universität in Hamburg und kehrte zum Studienabschluß wieder nach Tübingen zurück. Nach insgesamt 12 Semestern bestand ich am 4. August 1972 das medizinische Staatsexamen an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen.

Während der sich anschließenden Zeit als Medizinalassistent arbeitete ich an der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses in Nürtingen und an der II. Medizinischen Universitätsklinik in Köln. Zur Zeit arbeite ich am Diakonie-Krankenhaus in Schwäbisch Hall auf der gebh.-gyn. Abteilung.